

# Untersuchung funktioneller Schnittstellen zwischen Graphen und neuronalen Zellen

**Functional interfaces between graphene and neuronal cells**

Zur Erlangung des Grades Doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

genehmigte Dissertation von Silke Berit Körbitzer aus Frankfurt am Main

Tag der Einreichung: 21. Oktober 2019

Tag der Prüfung: 9. Dezember 2019

Erstgutachter: Prof. Dr. Jörg J. Schneider

Zweitgutachterin: Prof. Dr.-Ing. Christiane Thielemann



TECHNISCHE  
UNIVERSITÄT  
DARMSTADT

Fachbereich Chemie  
Eduard-Zintl-Institut für Anorganische  
und Physikalische Chemie

Untersuchung funktioneller Schnittstellen zwischen Graphen und neuronalen Zellen

Functional interfaces between graphene and neuronal cells

Genehmigte Dissertation von Silke Berit Körbitzer aus Frankfurt am Main

Erstgutachter: Prof. Dr. Jörg J. Schneider

Zweitgutachterin: Prof. Dr.-Ing. Christiane Thielemann

Tag der Einreichung: 21. Oktober 2019

Tag der Prüfung: 9. Dezember 2019

Darmstadt — D 17

Bitte zitieren Sie dieses Dokument als:

URN: *urn:nbn:de:tuda-tuprints-114621*

URL: *<https://tuprints.ulb.tu-darmstadt.de/id/eprint/11462>*

Veröffentlicht unter CC BY-SA 4.0 International

*<http://creativecommons.org/licenses/>*



---

# **Untersuchung funktioneller Schnittstellen zwischen Graphen und neuronalen Zellen**

Functional interfaces between graphene and neuronal cells

**Vom Fachbereich Chemie  
der Technischen Universität Darmstadt**

Zur Erlangung des Grades  
Doctor rerum naturalium  
(Dr. rer. nat.)

genehmigte Dissertation

von

**Silke Berit Körbitzer**

Erstgutachter: Prof. Dr. Jörg J. Schneider  
Zweitgutachterin: Prof. Dr.-Ing. Christiane Thielemann

Darmstadt 2019

---

---

# Kurzfassung

In dieser Arbeit wurden Mikroelektroden-Arrays mit Graphenelektroden auf ihre Eignung zur Ableitung und Stimulation neuronaler Zellen untersucht und mit anderen Materialien verglichen. Dazu wurden transparente Graphenelektroden und Gold / Graphen-Elektroden hergestellt und charakterisiert. Die Graphenelektroden wurden in drei verschiedenen Konfigurationen hergestellt: Mit Graphen beschichtete Goldelektroden und zwei verschiedene Konfigurationen für transparente Graphenelektroden. Als Vergleichsmaterialien wurden Gold-, Platin- und Titannitridelektroden sowie Elektroden mit Kohlenstoffnanoröhren herangezogen. Das Graphen wurde nach Herstellung durch chemische Gasphasenabscheidung mit einem Polymer-freien Transferprozess auf die Mikroelektroden-Chips aufgebracht und mit Lift-off strukturiert. Dieser Lift-off-Prozess wurde im Rahmen dieser Arbeit etabliert sowie optimiert und zeichnet sich gegenüber anderen Verfahren durch besonders saubere Graphenelektroden aus, die nicht mit Polymer-Resten verunreinigt sind oder noch mit aufwändigen Verfahren gereinigt werden müssen. Die Charakterisierung des Graphens erfolgte mittels Raman-Spektroskopie, AFM- und REM-Messungen. Zur elektrochemischen Charakterisierung der Elektroden wurden Impedanzspektroskopie, Zyklovoltammetrie und Transientenmessungen verwendet. Die Kombination dieser Untersuchungen ermöglichte es, die relevanten Materialparameter zu bestimmen und die Eignung der Elektroden zur Messung neuronaler Aktionspotentiale sowie zur Stimulation zu beurteilen. Mit Hilfe der Impedanzspektroskopie konnte zusätzlich das Korrosionsverhalten der Elektroden eingeschätzt werden. Durch ergänzende Zellkultur-experimente wurden die Biokompatibilität, die Langzeitstabilität, die Transparenz und die Qualität der abgeleiteten neuronalen und kardialen Signale untersucht.

Die Raman-Spektroskopie zeigt, dass es sich bei dem verwendeten Graphen um mehrlagiges, turbostratisches Graphen handelt. Seine Oberflächenrauheit ist dabei unabhängig vom Substrat. Sowohl Neurone als auch Kardiomyozyten adhärieren gut auf allen Graphenelektroden und die elektrische Kopplung ist besser als bei Platinelektroden. Die Rauigkeit und die Zellverträglichkeit von Graphen sind hierfür die entscheidenden Faktoren. Gleichzeitig zeigen Gold / Graphen-Elektroden konsistent bei allen Zellkultur-experimenten ein höheres Signal-Rausch-Verhältnis als transparente Graphenelektroden und sind damit besser für die Ableitung von Zellsignalen geeignet. Transparente Graphenelektroden haben dagegen den Vorteil, dass die Zellen direkt auf den Elektroden beobachtet werden können. Graphenelektroden sind eine gute Alternative zu anderen transparenten Elektrodenmaterialien wie zum Beispiel Indiumzinnoxid, das eine geringere Transmission und eine höhere Impedanz aufweist.

Anhand der Ergebnisse der elektrochemischen Charakterisierung können keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Konfigurationen der transparenten Graphenelektroden festgestellt werden. Differenzen zeigen sich nur in der Fehlertoleranz beim Herstellungsprozess und bei der Sichtbarkeit der Zellkultur.

Die Stimulationseigenschaften der Elektroden wurden anhand der Ergebnisse der Transientenmessungen und der Zyklovoltammetrie beurteilt. Transparente Graphenelektroden weisen dabei den größten sicheren Potentialbereich aller verglichenen Materialien auf. Dennoch zeigen Gold / Graphen-Elektroden die höchsten Werte für Ladungsspeicherkapazität und Ladungsinjektionskapazität. Der Vorteil der Gold / Graphen-Elektroden liegt damit in der Kombination einer niedrigen Impedanz und der hohen Ladungsinjektionskapazität. Zudem zeigt sich, dass die Beschichtung mit Graphen die Korrosionsresistenz und damit die Langzeitstabilität von Goldelektroden erhöht.

---

# Abstract

The major goal of this work is a detailed investigation of the potential benefits of graphene as electrode material for neuronal and cardiac recording and stimulation with microelectrode arrays. Electrodes with different materials are fabricated and characterised, particularly gold / graphene and transparent graphene electrodes. The fabrication of graphene electrodes includes two different layouts for transparent electrodes and one non-transparent layout for graphene with subjacent gold electrodes. Electrodes made of gold, platinum, titanium nitride and carbon nanotubes were also characterised for comparison. A lift-off process is established for fabricating graphene electrodes in order to avoid contamination with organic compounds. In combination with a polymer-free transfer process after chemical vapor deposition, this ensures a clean and defect poor graphene layer.

The characterisation measurements included Raman spectroscopy, AFM- and REM-imaging as well as electrochemical methods such as impedance spectroscopy, cyclic voltammetry and potential transients. In combination, these methods allow for a comprehensive analysis of the relevant material parameters and an assessment of the suitability for neuronal recording and stimulation. Furthermore, impedance spectroscopy is used to determine the corrosion properties of graphene electrodes. In order to validate the results, cell-culture experiments are performed and biocompatibility, long-term stability, transparency and spike recordings were compared for different materials.

Raman spectroscopy demonstrates that transparent graphene electrodes are comprised of turbostratic few-layer graphene. Its surface roughness is independent of the substrate. Cell-culture experiments of neurons and cardiomyocytes is successful and shows good adherence on graphene and improved electrical coupling compared to platinum electrodes. For this aspect, larger surface roughness and better biocompatibility are crucial parameters. At the same time, gold / graphene electrodes consistently show higher signal-to-noise ratios than transparent electrodes but naturally lack the benefit of direct cell observation. For cells exhibiting strong signals, such as cardiomyocytes, transparent graphene electrodes are an improvement in respect to other transparent materials, such as indium tin oxide, which shows smaller transmittance and higher impedance values.

No significant differences among the transparent electrode configurations were observed in their electrochemical characteristics. However, one configuration showed increased error tolerance for the manufacturing process, whereas the other exhibited better visibility of the cell culture.

Stimulation properties of electrode materials are evaluated based on cyclic voltammetry and potential transient measurements. Transparent graphene electrodes exhibit the largest safe potential region of all compared materials. However, derived values for charge storage capacity and charge injection capacity are largest for gold / graphene electrodes. Furthermore, coating with graphene improves corrosion resistance of gold electrodes and thereby enhances long-term stability.

---

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2. Grundlagen</b>	<b>4</b>
2.1. Elektrochemie	4
2.1.1. Schnittstelle Elektrode-Elektrolyt	4
2.1.2. Elektrochemische Kinetik	7
2.2. Elektrodenmaterialien	13
2.2.1. Graphen	13
2.2.2. Kohlenstoffnanoröhren	18
2.2.3. Metallische Elektrodenmaterialien	19
2.3. Elektrophysiologie erregbarer Zellen	22
2.3.1. Neuronale Zellen	22
2.3.2. Signalerzeugung und Weiterleitung	22
2.3.3. Kardiomyozyten	24
2.4. Neuronale Schnittstellen	26
2.4.1. Mikroelektroden-Arrays	26
2.4.2. Medizinische Anwendungen	29
2.4.3. Elektrodeneigenschaften	32
2.5. Graphen als Elektrodenmaterial	36
<b>3. Charakterisierungsmethoden</b>	<b>41</b>
3.1. Elektrochemische Charakterisierung	41
3.1.1. Elektrochemische Impedanzspektroskopie	42
3.1.2. Zyklovoltammetrie	44
3.1.3. Transientenmessungen	46
3.2. Optische Charakterisierung	47
3.2.1. Raman-Spektroskopie	47
3.2.2. Transmissionsmessungen	49
3.3. Charakterisierung der Oberfläche	50
3.3.1. Rasterelektronenmikroskopie	50
3.3.2. Rasterkraftmikroskopie	50
<b>4. Herstellung der Elektroden</b>	<b>52</b>
4.1. Herstellung und Transfer von Graphen	52
4.2. Strukturierung von Makroelektroden	53
4.3. Strukturierung von Mikroelektroden-Arrays	53
4.3.1. Transparente Graphenelektroden	55
4.3.2. Aufbau- und Verbindungstechnik	56
<b>5. Ergebnisse und Diskussion</b>	<b>58</b>
5.1. Charakterisierung der Elektroden	58
5.1.1. Makroelektroden	58
5.1.2. Mikroelektroden	62
5.1.3. Vergleich der Elektrodenmaterialien	72

---

5.2. Zellkultur . . . . .	78
5.2.1. Neuronale Ableitungen . . . . .	79
5.2.2. Kardiale Ableitungen . . . . .	82
5.2.3. Langzeitstabilität . . . . .	85
<b>6. Zusammenfassung und Ausblick</b>	<b>89</b>
<b>Literatur</b>	<b>91</b>
<b>Anhang</b>	<b>101</b>
<b>A. Übersicht Prozessierung</b>	<b>101</b>
<b>B. Statistik</b>	<b>102</b>
<b>C. Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>103</b>
<b>Danksagung</b>	<b>105</b>
<b>Erklärungen</b>	<b>108</b>

---

# 1 Einleitung

---

## Neuronale Schnittstellen

---

Der Begriff neuronale Schnittstellen umfasst sämtliche technischen Systeme, die eine Verbindung zwischen Elektronik und neuronalen Zellen herstellen. Da elektrische Impulse die Kommunikationsgrundlage des Nervensystems darstellen, erlauben es solche Schnittstellen, die Kommunikation von Nervenzellen durch elektrische Stimulation extern zu beeinflussen. Entsprechend kann auch die spontane elektrische Aktivität erregbarer Zellen über neuronale Schnittstellen gemessen werden.

Erste Versuche auf dem Gebiet unternahm 1791 Luigi Galvani mit der elektrischen Stimulation von Froschschenkeln [1], was auch einen der ersten Beiträge zur Elektrophysiologie darstellt. Alessandro Volta testete um 1800 die Reaktionen von Organen und Organismen auf angelegte Spannungen, unter anderem an seinen eigenen Ohren [2]. Edgar Adrian gelang es 1928 zum ersten Mal, elektrische Signale des Nervensystems aufzuzeichnen [3].

Zu den neuronalen Schnittstellen zählt auch die Erfindung der Voltage-Clamp-Technik 1949, mit der einzelne Zellen elektrisch kontaktiert und ihre Transmembranströme untersucht werden können [4]. Im einfachsten Fall ist die Schnittstelle ein Draht an einem Nerv, wie es in den Anfängen der Forschung auf diesem Gebiet an Tieren getestet wurde [5]. Um eine bessere Auflösung zu erzielen, ist in der Folge die Miniaturisierung der Elektroden vorangeschritten. Insbesondere die Entwicklung der Halbleitertechnologie hat zu diesem Prozess beigetragen, sodass seit 1972 substratintegrierte Mikroelektroden-Arrays (MEAs) zur Messung von Zellsignalen und zur Stimulation von erregbaren Zellen verwendet werden [6]. Hierbei handelt es sich um eine Anordnung von Elektroden, deren räumliche Ausdehnung mit einigen 10  $\mu\text{m}$  in der gleichen Größenordnung wie einzelne Zellen liegen. Damit lassen sich sowohl die Signale einzelner Zellen messen und stimulieren, als auch das Verhalten eines gesamten neuronalen Netzwerks auf dem Chip untersuchen. Das Verhalten einzelner Neurone und ihre Funktionsweise ist mittlerweile gut verstanden. Allerdings ist es ihr Zusammenspiel in einem Netzwerk, das letztendlich die Funktionsweise unseres Gehirns ausmacht. Um dies besser zu verstehen, geht die Entwicklung hin zu noch kleineren, dichteren und damit genaueren Elektroden-Arrays [7]. Eine Herausforderung dabei ist es, die passenden Materialien für diesen Einsatz zu finden.

Neuronale Schnittstellen werden auch in medizinischen Anwendungen eingesetzt, zum Beispiel in neuronalen Implantaten und Prothesen, mit denen eine ganze Reihe neurologischer und sensorischer Erkrankungen gelindert werden können. Bis auf wenige Ausnahmen basieren sie hauptsächlich auf der elektrischen Stimulation von Zellen und Gewebe. Die Effizienz, mit der stimuliert werden kann, ist dabei abhängig von der Kopplung zwischen Elektrode und Zellen und für eine gute Kopplung ist das Material der Mikroelektrode von entscheidender Bedeutung. Die aktuell verwendeten Elektroden weisen eine nicht optimale Kopplung zum Gewebe auf und zeigen bei Langzeitimplantation Korrosionserscheinungen. Daher ist auch hier die Suche nach einem geeigneten Elektrodenmaterial Gegenstand der aktuellen Forschung. Eine Option, die viele der nötigen Eigenschaften vereint, sind Kohlenstoffnanomaterialien.

---

## Graphen

---

Nanostrukturen auf Kohlenstoffbasis sind in einer Vielzahl von Modifikationen und geometrischen Formen bekannt. Gemeinsam ist ihnen, dass ihre Ausdehnung in mindestens einer Dimension in der Größenordnung von Nanometern liegt. Graphen besteht aus einer einatomigen Lage von Kohlenstoffatomen und ist nur 0,34 nm dick. Seit seiner Entdeckung 2004 sind viele besondere Eigenschaften dieses Materials

---

bekannt geworden [8]. Die elektrische Leitfähigkeit in defektarmen Monolagen übertrifft bei Raumtemperatur mit bis zu  $10^9$  S/m alle bekannten Leitermaterialien. Gleichzeitig hat es eine hohe mechanische Stabilität, ist sehr reißfest aber auch gleichzeitig elastisch und flexibel. Der Elastizitätsmodul beträgt 1 TPa und die Zugfestigkeit 130 GPa [9]. Des Weiteren zeichnet es sich aus durch eine hohe chemische Stabilität und eine Undurchlässigkeit für Gasmoleküle [10]. Es ist transparent für sichtbares Licht, hat aber für eine Monolage eine hohe Absorption von 2,3 % und besitzt eine hohe Wärmeleitfähigkeit von  $5,3 \cdot 10^3$  W/Km [11]. Für biologische Anwendungen ist zudem relevant, dass es biokompatibel ist, keine Toxizität aufweist und von Zellen als Substrat angenommen wird. Durch diese Kombination von vielen nützlichen Eigenschaften ist Graphen ein vielversprechendes Elektrodenmaterial und hat Anwendungen im Bereich der Biosensorik und der Biomedizin gefunden [12]. Für die Anwendung als Mikroelektrodenmaterial ist vor allem die hohe Leitfähigkeit und die Biokompatibilität von entscheidender Bedeutung. Die gute elektrochemische Stabilität ist für Stimulationselektroden relevant, die vermehrt Korrosion ausgesetzt sind und die hohe Transparenz erlaubt die direkte Beobachtung von Zellen auf der Elektrode. Zusätzlich ist die hohe Stabilität bei gleichzeitiger Flexibilität von Vorteil für implantierbare Elektroden.

---

## Motivation

---

Als Standard-Elektrodenmaterialien kommen bisher vor allem Metalle und Legierungen wie Platin, Gold, Platin/Iridium und Edelstahl zum Einsatz [7]. Für planare *in vitro*-Elektroden in MEAs werden zusätzlich Titannitrid-Elektroden verwendet. Titannitrid ist ein leitfähiges keramisches Material und dadurch sehr stabil und langlebig. Für implantierbare Elektroden im medizinischen Bereich wird hauptsächlich Platin benutzt, da es korrosionsbeständig ist und nur begrenzt Reaktionen mit dem biologischen Umfeld auftreten. Zudem ist es leicht zu verarbeiten und seine Eigenschaften sind genau bekannt.

Allerdings gibt es einige elektrische, biologische und mechanische Aspekte, welche die Anwendbarkeit dieser Standard-Materialien begrenzen. Ein Nachteil ist die Steifigkeit der Elektroden im Vergleich zu neuronalem Gewebe. Dieses ist relativ weich mit einem Elastizitätsmodul im Bereich von kPa, während Metalle einen Elastizitätsmodul von über 100 GPa aufweisen [7]. Die mechanische Diskrepanz führt vor allem im medizinischen und *in vivo*-Einsatz zu Entzündungs- und Abstoßungsreaktionen die durch Mikrobewegungen im Gewebe ausgelöst werden. Diese chronischen biologischen Reaktionen auf Fremdkörper können die Funktion der Implantate beeinträchtigen [13]. Dabei bildet sich unter anderem eine Schicht nicht-erregbarer Zellen an der Elektrode, was die Impedanz lokal erhöht und damit die Signalqualität vermindert. Zudem haben glatte Metallelektroden wenig direkten Kontakt mit den Zellen, da diese bevorzugt auf rauen Oberflächen anhaften. Die schlechte Kopplung vermindert zum einen die Signalqualität, indem sie zu höherem Rauschen und niedrigeren Signalamplituden führt, und zum anderen können in diesen Spalt Immunzellen eindringen und dadurch die Impedanz weiter erhöhen. Weitere Probleme konventioneller Metallelektroden sind die niedrigen Ladungsträgerinjektionslimits, welche die Effizienz der Stimulation bestimmen, sowie auftretende Korrosion, was die Langzeitstabilität der Elektroden vermindert [14].

Die Entwicklung zukünftiger neuronaler Elektroden geht in Richtung kleinerer Elektroden und dichter Arrays, um das Auflösungsvermögen zu verbessern [7]. Die Miniaturisierung der Metallelektroden ist jedoch problematisch, da kleine Elektroden niedrigere Ladungsträgerinjektionslimits aufweisen. Eine kleine Elektrode muss höheren Spannungen widerstehen können, um die gleiche Ladung zu übertragen, als eine größere Elektrode. Eine hohe Spannung an der Elektrode ist wiederum mit einem erhöhten Risiko für Korrosion und für Zellen schädigende elektrochemische Reaktionen verbunden. Zusätzlich nimmt die elektrische Impedanz mit kleinerer Fläche zu, was wiederum das Rauschen erhöht und damit die Signalqualität beeinträchtigt.

Zusammenfassend sind die Herausforderungen an Materialien für neuronale Elektroden das Sicherstellen einer konstanten und niedrigen Impedanz an der Elektrode-Gewebe-Schnittstelle, gute Stimulationseigenschaften, eine funktionalisierbare Oberfläche, die Entzündungsreaktionen abschwächt und gleich-

---

zeitig für eine gute Kopplung zwischen Elektrode und Zelle sorgt, sowie mechanische Belastbarkeit und Flexibilität um die Integration mit neuronalem Gewebe zu fördern. Ansätze, um diese Probleme zu lösen, sind zum einen die Verwendung flexibler Materialien, die besser an neuronales Gewebe angepasst sind [14]. Zum anderen sind es Oberflächenmodifikationen wie zum Beispiel anorganische Beschichtungen, dreidimensionale Nanostrukturen, Funktionalisierung und bioaktive Beschichtungen, die eingesetzt werden, um die Oberfläche für die Zellen annehmbarer zu gestalten und die Adhäsion zu fördern [7, 14]. Vor allem Kohlenstoffnanomaterialien vereinen viele der gesuchten Eigenschaften. Sie sind leitfähig, flexibel, funktionalisierbar, biokompatibel und lassen sich nanostrukturiert herstellen. Dabei ist insbesondere Graphen aufgrund seiner vielen positiven Eigenschaften ein hervorragender Kandidat.

---

## **Struktur und Ziel dieser Arbeit**

---

Aus den genannten Gründen wird in dieser Arbeit untersucht, wie gut sich Graphen als Elektrodenmaterial für Mikroelektroden eignet, sowohl für die Messung von Signalen als auch für die elektrische Stimulation. Die aktuelle Literatur ist fokussiert auf große Elektroden wobei große Unterschiede bei den verwendeten Substratmaterialien, der biologischen Testumgebung, der Materialqualität und den gewählten Untersuchungsmethoden zu finden sind. Alle diese Parameter haben Einfluss auf die charakteristischen Werte der Elektroden, was den Vergleich erschwert. Daher ist es Ziel dieser Arbeit, eine Übersicht über Mikroelektroden auf Basis von Standard-Elektrodenmaterialien wie Gold, Platin und Titannitrid zu geben und diese mit Graphenelektroden zu vergleichen. Um die Vergleichbarkeit zu gewährleisten, werden alle Elektroden mit der gleichen Größe verwendet sowie mit den gleichen Methoden charakterisiert. Besonders werden dabei auch die Stimulationseffizienz und die Langzeitstabilität der Graphenelektroden untersucht und der Einfluss des Chip-Substrats auf die Elektroden analysiert.

Forschung an neuronalen Elektroden ist ohne ein Zusammenspiel verschiedener Disziplinen wie Chemie, Physik, Biologie und Materialwissenschaften nicht möglich. Daher werden in Kapitel 2 die chemischen, physikalischen und biologischen Grundlagen erläutert. Zusätzlich wird auf die Materialgrundlagen sowie auf einige Anwendungen von neuronalen Schnittstellen eingegangen. Kapitel 3 befasst sich mit den verwendeten Methoden und ihre Umsetzung im Experiment, während in Kapitel 4 die Herstellung der MEA-Chips beschrieben wird. In Kapitel 5 werden die Ergebnisse der Charakterisierung und der Zellexperimente gezeigt und diskutiert. Eine Zusammenfassung mit Ausblick beschreibt Anwendungsmöglichkeiten und alternative Materialien.



---

## 2 Grundlagen

Für die Untersuchung von neuronalen Schnittstellen ist das Verständnis der Vorgänge am Übergang zwischen Elektrode, Elektrolyt und biologischem Gewebe von wesentlicher Bedeutung. Dieses Kapitel widmet sich daher zuerst den elektrochemischen Vorgängen am Phasenübergang von einem elektrischen Leiter zu einem ionischen Leiter, wie er zum Beispiel zwischen einer Metallelektrode und einem Elektrolyt vorkommt. Die Elektrodenmaterialien haben entscheidenden Einfluss auf das Verhalten der Elektrode und werden im darauffolgenden Abschnitt betrachtet. Der Schwerpunkt liegt hierbei auf der Struktur, den Eigenschaften und den Herstellungsmethoden von Graphen. Im nächsten Abschnitt wird die Elektrophysiologie neuronaler und kardialer Zellen erläutert und anschließend auf die Schnittstelle zwischen Elektrode und biologischem Gewebe beziehungsweise Zellen eingegangen. Hier liegt das Hauptaugenmerk auf den Anwendungen, sowohl in der Forschung als auch im medizinischen Bereich und den jeweiligen Anforderungen an die Elektroden. Eine Betrachtung der Biokompatibilität von Graphen und der aktuellen Literatur über Graphenelektroden für neuronale Schnittstellen schließt das Kapitel ab.

---

### 2.1 Elektrochemie

---

Der Zusammenhang zwischen elektrischen und chemischen Vorgängen ist Gegenstand der Elektrochemie. Die dabei auftretenden Grenzflächenphänomene am Übergang zwischen einem festen und einem flüssigen Medium sind die Grundlage für das Verständnis und die Charakterisierung von neuronalen Schnittstellen.

---

#### 2.1.1 Schnittstelle Elektrode-Elektrolyt

---

Der Unterschied zwischen einem Elektronenleiter und einem Elektrolyten liegt in der Art der beweglichen Ladungsträger begründet. Im Elektronenleiter, zum Beispiel einem Metall, liegen Elektronen als freies Elektronengas im Leitungsband vor und haben dadurch eine hohe Beweglichkeit. Damit einher geht eine hohe Leitfähigkeit, die nur durch Streuprozesse mit Phononen, anderen Elektronen oder Gitterfehlern begrenzt wird. In einem Elektrolyt dagegen sind Ionen die relevanten Ladungsträger. Sie liegen frei beweglich vor, entweder im festen, flüssigen oder gelöstem Zustand. In wässriger Lösung sind sie von einer Hydrathülle umgeben, deren Größe sich nach der Ladung und dem Durchmesser der jeweiligen Ionensorte richtet. Die Leitfähigkeit eines Elektrolyten ist abhängig von der Größe der Ionen beziehungsweise ihrer Hydrathülle sowie der Ionenkonzentration. Eine hohe Konzentration, wie sie bei starken Elektrolyten vorkommt, bei denen die Ionen eines Salzes vollständig dissoziiert sind, führt zu einer hohen Leitfähigkeit. Bei sehr hohen Konzentrationen sinkt jedoch die Leitfähigkeit wieder, da die Ionen durch interionische Wechselwirkung weniger beweglich sind. Typische Leitfähigkeitswerte für starke Elektrolyte liegen im Bereich von  $10^2$  S/m [15] (zum Vergleich: Kupfer  $10^6$  S/m [16], Phosphatgepufferte Salzlösung (PBS)  $1 - 10$  S/m [17], reines Wasser  $10^{-7}$  S/m [15]).

Der Transport von Ionen in einem Elektrolyten wird durch drei Prozesse bewirkt: Konvektion, Migration und Diffusion. Konvektion und Migration werden durch Energiezufuhr von außen hervorgerufen. Im Fall von Konvektion geschieht dies zum Beispiel durch Wärmezufuhr oder Rühren, bei Migration erfolgt die Bewegung der geladenen Teilchen entlang eines externen elektrischen Feldes. Diffusion erfolgt aufgrund der intrinsischen Bewegung der Teilchen, der Brownschen Molekularbewegung, zum Beispiel entlang eines Konzentrationsgradienten und findet auch ohne äußere Einflüsse statt. Dieser Prozess ist relativ langsam. In Lösungen mit hoher Leitfähigkeit ist die Migration vernachlässigbar, da sich kein

---

ausreichend großer Potentialgradient im Elektrolyten ausbilden kann. Solange keine weiteren äußeren Einflüsse wirken, ist Diffusion dann der einzige relevante Prozess [18].

Der Übergang zwischen Elektronen- und Ionenleiter findet an der Elektrode statt. Die Vorgänge an der Elektrodenoberfläche können dabei in faradaysche und nicht-faradaysche Prozesse unterteilt werden. Finden elektrochemische Reaktionen statt, die Elektronen durch die Oberfläche transferieren und Ionen im Elektrolyten umladen beziehungsweise oxidieren/reduzieren, spricht man von Elektronentransfer-Reaktionen oder faradayschen Prozessen. Sie folgen dem Faradayschen Gesetz: Die abgeschiedene Stoffmenge ist proportional zur transportierten elektrischen Ladung mit der Faradaykonstante  $F = N_A e = 9,64853 \cdot 10^4 \text{ C/mol}$  als Proportionalitätskonstante [19]. Nicht-faradaysche Prozesse dagegen finden immer statt, unabhängig von faradayschen. Zu ihnen zählen Adsorption, Desorption und Umlagerungsprozesse von Ionen an der Elektrodenoberfläche. Sie dominieren das Geschehen an der Schnittstelle, wenn kein Elektronentransfer erfolgt.

Für den Fall, dass keine Spannung anliegt, gleichen sich die Potentiale an der Phasengrenze über die elektrochemische Doppelschicht aneinander an. Sie ist im Elektrolyten  $0,1 - 10 \text{ nm}$  dick, je nach Konzentration und Zusammensetzung des Elektrolyten [15] und folgt der Form der Elektrode exakt bis auf die atomare Ebene. Damit ist sie für raue Elektroden größer als für glatte und entspricht der realen Oberfläche der Elektrode. Sie besteht aus zwei Schichten mit unterschiedlichem Potentialgefälle und verhält sich wie ein Kondensator mit einer spezifischen Kapazität im Bereich von  $5 - 50 \mu\text{F/cm}^2$  [15]. In Abbildung 2.1 ist der Aufbau der Doppelschicht und der entsprechende Potentialverlauf gezeigt.

Direkt an der Elektrodenoberfläche lagern sich sowohl Lösungsmittelmoleküle als auch adsorbierte Ionen an. Der Abstand von der Oberfläche bis zum Radius der Ionen wird als starre Doppelschicht bezeichnet. In diesem Bereich fällt das Potential von dem Wert im Metall,  $\varphi_M$ , linear ab. Weiter weg von der Oberfläche bildet sich die sogenannte Diffuse Doppelschicht aus. Hier sammeln sich hydratisierte Ionen und das Potential fällt exponentiell zum Bulk-Wert des Elektrolyten ab.

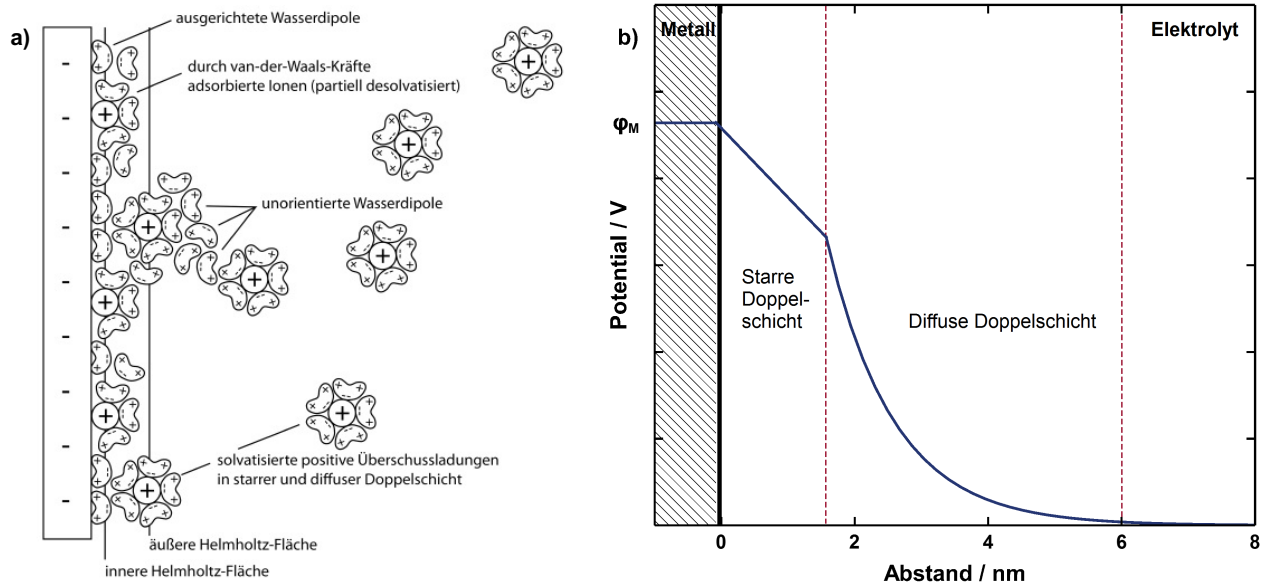
Der lineare Zusammenhang wurde zuerst von H. von Helmholtz (1835) beschrieben und basiert auf der simplen Annahme einer Schicht bestehend aus adsorbierten, teilweise hydratisierten Ionen an der Phasengrenze, die sich wie ein Plattenkondensator verhält. Der diffuse Teil der Doppelschicht wurde von L. Gouy (1910) und D. Chapman (1913) basierend auf der Boltzmann- und der Poisson-Gleichung hergeleitet, aber erst die Kombination beider Theorien von O. Stern (1924) erlaubte eine adäquate Beschreibung der experimentellen Werte [20]. Hier werden beide Teile der Doppelschicht als in Reihe geschaltete Kapazitäten behandelt und die Gesamtkapazität ergibt sich aus:

$$\frac{1}{C_{dl}} = \frac{1}{C_H} + \frac{1}{C_D} \quad (2.1)$$

mit  $C_{dl}$ : Doppelschichtkapazität,  $C_H$ : Kapazität der Helmholtzschicht (Starre Doppelschicht),  $C_D$ : Kapazität der Diffusen Doppelschicht.

Im Gegensatz zum kapazitiven Verhalten der Doppelschicht können die parallel am Phasenübergang auftretenden faradaysche Prozesse als Widerstand modelliert werden. Damit lässt sich das Elektrode-Elektrolyt-Interface im einfachsten Fall als Parallelschaltung eines Kondensators und eines Widerstands beschreiben. Dies wird in späteren Kapiteln noch ausführlicher diskutiert.

Damit Elektronentransferreaktionen stattfinden können, muss ein geschlossener Stromkreis vorliegen. Diesen erhält man durch zwei Elektroden mit einer leitenden Verbindung außerhalb des Elektrolyten. Die Oxidations- und Reduktionsreaktionen finden an den separaten Elektroden statt und können als Halbzellenreaktionen separat beschrieben werden. Da das Potential einer einzelnen Elektrode nicht direkt gemessen werden kann, sondern nur Potentialdifferenzen experimentell bestimmt werden können, werden alle Redoxpotentiale in Bezug auf die Standardwasserstoffelektrode (SHE) angegeben. Die Kon-



**Abbildung 2.1.:** a) Schema der Elektrochemischen Doppelschicht. Die äußere Helmholtz-Fläche trennt die starre von der diffusen Doppelschicht. b) Potentialverlauf am Übergang zwischen Elektrode und Elektrolyt. Innerhalb der starren Doppelschicht ist der Potentialabfall linear und geht in den exponentiellen Verlauf der diffusen Doppelschicht über, nach [15].

vention legt  $E^0 = 0$  für die Reaktion  $\text{H}_2 \rightleftharpoons 2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$  bei Standardbedingungen fest ( $T = 25^\circ\text{C}$ , Druck  $p = 1013\text{ hPa}$  und Konzentration  $c = 1\text{ mol/l}$ ). Jeder Halbzellenreaktion kann damit ein Standardelektrodenpotential  $E^0$  zugeordnet werden, indem man sie in Bezug auf die SHE misst.

Thermodynamisch betrachtet läuft eine (elektro-) chemische Reaktion dann freiwillig ab, wenn die Differenz der Freien Enthalpie der beiden Zustände negativ ist, da dann der neue Zustand energetisch vorteilhaft ist:

$$\Delta G = -nFE \quad (2.2)$$

mit  $G$ : Freie Enthalpie,  $n$ : Anzahl der beteiligten Elektronen,  $F$ : Faradaykonstante,  $E$ : Elektrodenpotential.

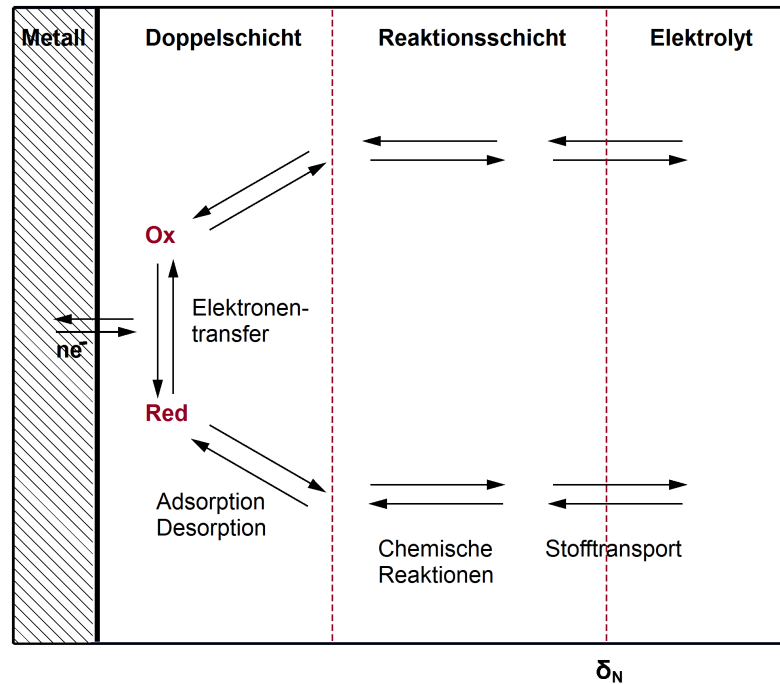
Daraus folgt, dass Reaktionen mit  $E > 0$  spontan ablaufen, da  $\Delta G < 0$  ist. Dieser Fall beschreibt ein Galvanisches Element, in dem eine chemische Reaktion zu einer Potentialdifferenz führt (zum Beispiel eine Batterie). Wird dagegen Strom angelegt, um eine Reaktion auszulösen, handelt es sich um Elektrolyse ( $\Delta G > 0$ ). Der resultierende Strom ist dabei jeweils proportional zur Reaktionsrate. Aus thermodynamischen Überlegungen lässt sich auch die Nernst-Gleichung herleiten. Sie beschreibt den Gleichgewichtswert des Elektrodenpotentials, der sich ohne äußere Einflüsse einstellt:

$$E = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_{\text{Ox}}}{a_{\text{Red}}} \quad (2.3)$$

mit  $E^0$ : Standardelektrodenpotential,  $a$ : konzentrationsabhängige Aktivität der Redoxpartner.

Da die Nernst-Gleichung temperaturabhängig ist, kann das Elektrodenpotential auch bei Abweichungen von den Standardbedingungen ermittelt werden. Trotz grundsätzlich erfüllter thermodynamischer Bedingungen können Prozesse aufgrund von langsamer Kinetik gehemmt sein. Die Kinetik von Elektrodenreaktionen wird daher im nächsten Abschnitt genauer betrachtet.

## 2.1.2 Elektrochemische Kinetik



**Abbildung 2.2.:** Vorgänge an der Schnittstelle von Elektrode und Elektrolyt. Innerhalb der Doppelschicht findet der Elektronentransfer und die Adsorption/Desorption der reagierenden Spezies statt. In der Reaktionsschicht treten mögliche vorgelagerte Reaktionen auf und der Stofftransport bewirkt die Verbindung zum Rest des Elektrolyten. Jeder dieser Schritte kann mit einer Überspannung assoziiert sein, nach [21].

Um die elektrochemischen Reaktionen, die an einer Elektrode stattfinden, beschreiben zu können, müssen auch vor- und nachgelagerte Prozesse mit betrachtet werden. In Abbildung 2.2 sind die verschiedenen Vorgänge am Elektrode-Elektrolyt-Schnittstelle und ihre Abhängigkeiten voneinander gezeigt. Direkt an der Elektrodenoberfläche erfolgt die Elektronentransfer-Reaktion, bei der die Oxidation/Reduktion der Reaktanden stattfindet und Elektronen mit dem Elektrodenmaterial ausgetauscht werden. Vor- beziehungsweise nachgelagerte Schritte sind Adsorption/Desorption an der Oberfläche, vorgelagerte chemische Reaktionen zu einem Zwischenprodukt und der Stofftransport aus dem Bulk des Elektrolyten. Im einfachsten Fall (keine vorgelagerten Reaktionen, Stofftransport nur durch Diffusion) liefern die Geschwindigkeit der Elektronentransfer-Reaktion und die der Diffusion die wichtigsten Beiträge zur gesamten Reaktionsgeschwindigkeit. Der langsamste Schritt ist dabei geschwindigkeitsbestimmend, da die Stromdichten über folgende Beziehung miteinander verknüpft sind:

$$\frac{1}{j_L} = \frac{1}{j_{\text{trans}}} + \frac{1}{j_{\text{diff}}} \quad (2.4)$$

mit  $j_L$ : Grenzstromdichte,  $j_{\text{trans}}$ : Stromdichte der Elektrodenreaktion,  $j_{\text{diff}}$ : Stromdichte durch Diffusion.

Die Diffusionsstromdichte  $j_{\text{diff}}$  für den stationären Fall ergibt sich aus dem ersten Fickschen Gesetz, welches besagt, dass die Diffusionsstromdichte proportional zum Konzentrationsgradienten ist. Das zweite Ficksche Gesetz beschreibt dagegen den zeitlichen Ablauf des Diffusionsvorgangs.

$$j_{\text{diff}} = -D\nabla c(x, t) \quad (2.5)$$

$$\frac{\partial c(x, t)}{\partial t} = D\nabla^2 c(x, t) \quad (2.6)$$

mit D: Diffusionskonstante, c: Konzentration.

Die analytische Lösung dieser Gleichungen ist für einige Elektrodengeometrien mithilfe der Laplace-Transformation und der Wahl der passenden Anfangs- und Randbedingungen möglich [21, 22], wird im Allgemeinen aber durch Näherungen oder Simulationen gelöst [23, 24]. Eine Lösung für planare Elektrode ist die Cottrell-Gleichung:

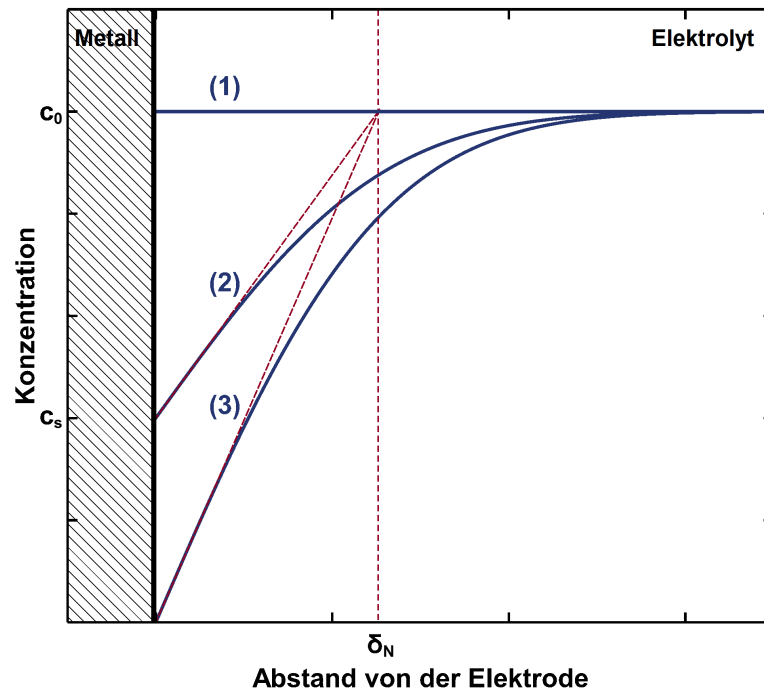
$$j_{\text{diff}}(t) = \frac{nFDc_0}{\sqrt{\pi Dt}} \quad (2.7)$$

mit n: Anzahl der Ladungsträger, F: Faraday-Konstante, D: Diffusionskonstante,  $c_0$ : Bulk-Konzentration des Elektrolyten.

Der Nenner wird auch als Nernst-Diffusionsschicht  $\delta_N$  bezeichnet. Sie beschreibt den Bereich des Elektrolyten direkt an der Elektrode, in dem die Ionenkonzentration signifikant vom Bulk-Wert abweicht. In Abbildung 2.3 ist die Konzentrationsverteilung im Elektrolyt direkt an der Elektrodenoberfläche auf Basis der Cottrell-Gleichung gezeigt [21]. Ohne Stromfluss ist die Konzentration bei  $c_0$  konstant (Kurve 1). Nach Einschalten des Stroms sinkt die Konzentration an der Elektrodenoberfläche auf einen Wert  $c_s$  ab und die Nernst-Diffusionsschicht bildet sich aus (Kurve 2). In diesem Fall ist die Durchtrittsreaktion langsam und damit der Stoffumsatz klein sowie die Diffusion schnell genug um  $c \neq 0$  aufrechtzuerhalten. Bei Erreichen der Grenzstromdichte ist  $c$  an der Elektrode auf Null abgesunken (Kurve 3). In diesem Bereich ist die Durchtrittsreaktion schnell, der Stoffumsatz hoch und die Diffusion bestimmt die Reaktionsgeschwindigkeit. Damit ist die maximal mögliche Stromdichte  $j_L$  erreicht.

Das Potential, das angelegt werden muss, um Elektrodenreaktionen hervorzurufen, ist oft größer als das Standardelektrodenpotential  $E^0$ . Dies liegt daran, dass verschiedene Prozesse in der elektrochemischen Zelle als zusätzliche Widerstände wirken und ebenfalls zu Potentialabfällen führen. Der Potentialanteil, der damit für die Reaktion zur Verfügung steht, ist um den Faktor  $\eta$  vermindert. Die sogenannte Überspannung  $\eta = E - E^0$  muss daher zusätzlich aufgewendet werden, um eine Reaktion stattfinden zu lassen, beziehungsweise verringert das Potential, das von einem galvanischen Element zur Verfügung gestellt werden kann. Die Gesamtüberspannung ergibt sich dabei aus der Summe aller Beiträge  $\eta = \sum \eta_i$ . Mögliche Ursachen können in allen Teilschritten des Gesamtprozess vorliegen (siehe Abbildung 2.2). Typische Beispiele für Überspannungen sind:

- Konzentrationsüberspannung: Transport der Reaktanden zur Elektrode hin oder der Produkte von der Elektrode weg ist gehemmt (Spezialfall: Diffusionsüberspannung).
- Durchtrittsüberspannung: Durchtritt der Ladungsträger durch die elektrochemische Doppelschicht ist gehemmt.
- Reaktionsüberspannung: zur eigentlichen Reaktion vor- oder nachgelagerter Prozess ist gehemmt.
- Kristallisationsüberspannung: Einbau von Metallatomen in das Metallgitter der Elektrode oder der umgekehrte Prozess ist gehemmt.
- Widerstandspolarisation: Verursacht durch den ohmschen Widerstand des Elektrolyten, die Kontaktwiderstände und den Widerstand des Stromkreises.



**Abbildung 2.3.:** Konzentrationsprofile am Übergang zwischen Elektrode und Elektrolyt für verschiedene Fälle. Ohne Stromfluss ist die Konzentration der elektroaktiven Spezies konstant (1). Bei kleinem Stromfluss (2) sinkt ihre Konzentration an der Oberfläche auf  $c_s$  ab und es bildet sich die Nernst-Diffusionsschicht aus. Im Grenzstrombereich (3) ist an der Oberfläche die Konzentration auf Null abgefallen und weitere Reaktionen finden nur statt, wenn weitere Reaktanden aus dem Elektrolyt zur Elektrode gelangen, zum Beispiel durch Diffusion, nach [21].

Um Messungen möglichst wenig zu verfälschen, werden viele Methoden angewandt die das Ziel haben, die Beiträge zur Überspannung zu reduzieren oder quantitativ zu bestimmen. Zum Beispiel kann durch die Position der Elektroden zueinander die Widerstandspolarisation reduziert, durch eine hochohmige Messung Überspannungen an der Referenzelektrode vermieden, der ohmsche Spannungsabfall im Elektrolyten bestimmt und herausgerechnet sowie durch Bewegung der Lösung oder der Elektrode die Diffusionsüberspannung vermindert werden.

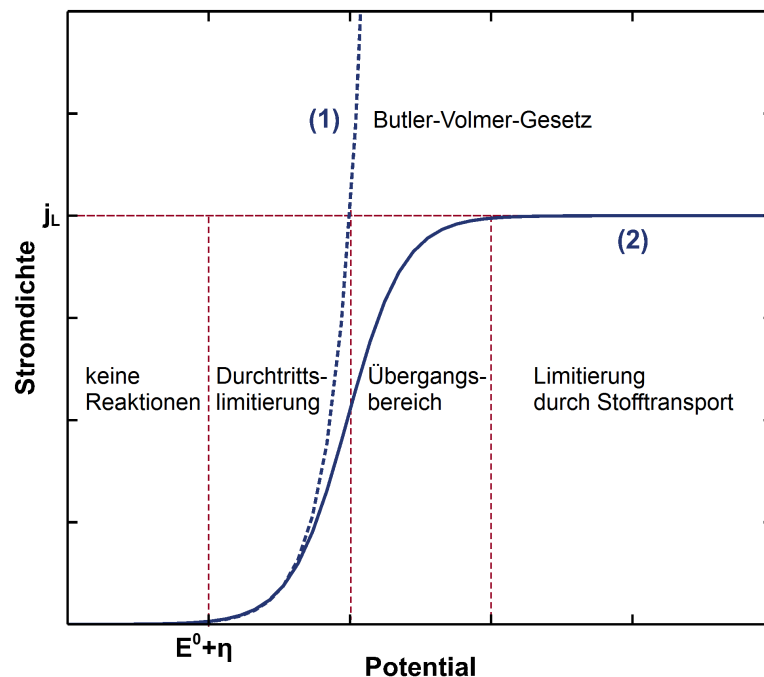
Wird das benötigte Potential für eine Reaktion  $E^0 + \eta$  an einer Elektrode angelegt, ergibt sich eine Stromdichte  $j$ . Die Butler-Volmer-Gleichung 2.8 beschreibt die resultierende Durchtritts-Strom-Spannungs-Beziehung. Sie ist der zentrale Zusammenhang der elektrochemischen Reaktionskinetik in der Nähe des Gleichgewichtspotentials unter der Voraussetzung, dass die Reaktion nicht diffusionslimitiert ist.

$$j = j_0 \left( \exp \left[ \frac{\alpha_{\text{Ox}} n F}{R T} \eta \right] - \exp \left[ \frac{\alpha_{\text{Red}} n F}{R T} \eta \right] \right) \quad (2.8)$$

mit  $j$ : Stromdichte,  $j_0$ : Austauschstromdichte,  $n$ : Anzahl der beteiligten Elektronen,  $F$ : Faradaykonstante,  $R$ : universelle Gaskonstante,  $T$ : Temperatur,  $\eta$ : Überpotential,  $\alpha_{\text{Ox}}$ : Durchtrittsfaktor für die anodische Reaktion (Oxidation)  $\alpha_{\text{Red}}$ : Durchtrittsfaktor für die kathodische Reaktion (Reduktion).

Nach der Butler-Volmer-Gleichung steigt jeweils der anodische und der kathodische Strom mit steigendem Potential exponentiell an, nur mit unterschiedlichem Vorzeichen. Dabei ist der Durchtrittsfaktor  $\alpha$  (also wie schnell Elektronen durch die Oberfläche der Elektrode durchtreten können) der entscheidenden



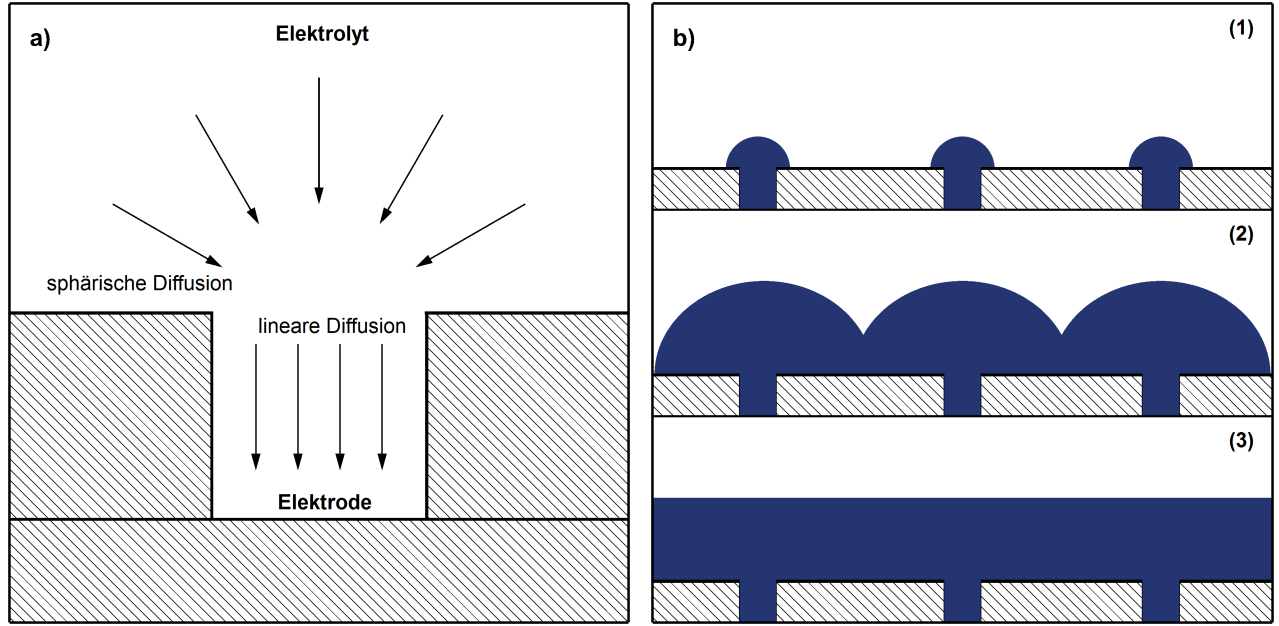


**Abbildung 2.4.:** Stromdichte-Potential-Beziehung nach der Butler-Volmer-Gleichung (1) und mit Limitierung durch Stofftransport (2). Unter dem Wert von  $E^0 + \eta$  finden keine Reaktionen statt. Im Bereich der Durchtritts-limitierung steigt die Stromdichte nach dem Butler-Volmer-Gesetz stark an und im realen Fall mit Limitierung durch Stofftransport (zum Beispiel Diffusion) erreicht sie eine Sättigung, nach [20].

de Koeffizient, der bestimmt, mit welcher Rate die Reaktion abläuft. In Abbildung 2.4 ist der typische Verlauf für den anodischen Fall gezeigt. Liegt das angelegte Potential unter dem Wert von  $E^0 + \eta$ , finden keine Reaktionen statt. Im Bereich der Durchtritts-limitierung steigt die Stromdichte stark an und geht im Fall von Diffusionslimitierung in einen Sättigungsbereich bei  $j_L$  über. Hier ist der Stofftransport zur Elektrode durch Diffusion der limitierende Faktor, da die Konzentration der Reaktionsedukte an der Elektrodenoberfläche gegen Null geht. Weitere Reaktionen können nur stattfinden, wenn neue Edukte aus dem Bulk des Elektrolyten nachgeliefert und die entstandenen Produkte abtransportiert werden. Der diffusionsbedingte Beitrag lässt sich auch als Warburg-Impedanz beschreiben.

## Mikroelektroden

Bei Mikroelektroden ist die Dicke der Nernst-Diffusionsschicht in der gleichen Größenordnung wie die charakteristische Dimension der Elektrode, zum Beispiel der Radius. Damit kommen vermehrt Randeffekte zum Tragen und die Diffusion erfolgt sphärisch anstatt linear. Das bedeutet, dass pro Zeit- und Flächeneinheit mehr Ionen zur Oberfläche diffundieren als im makroskopischen Fall. Dadurch verringert sich der Elektrolytwiderstand und es können höhere Grenzstromdichten erreicht werden. Weiterhin sind Mikroelektroden sensitiv auf geringe Konzentrationsunterschiede, zum Beispiel durch Verunreinigungen, und kapazitive Effekte kommen weniger zum Tragen [20]. Im Falle einer zurückgesetzten Mikroelektrode befindet sich die Elektrode am Grund einer Vertiefung in einem isolierenden Material. Innerhalb dieser Kavität müssen die Ionen ein lineares Diffusionsfeld durchwandern, an das sich ein sphärisches anschließt. Eine solche Mikroelektrode und ihre Diffusionsfelder sind in Abbildung 2.5 a) gezeigt. Um den Diffusionsgrenzstrom für diese Geometrie zu bestimmen, muss Gleichung 2.5 und 2.6 gelöst werden. Da dies ein nichttriviales Problem ist, soll hier nur eine näherungsweise Lösung betrachtet werden [23]. Da die Geometrie eine Kombination einer Scheibenelektrode mit sphärischer Diffusion und einer Ka-



**Abbildung 2.5.:** a) Diffusionsfelder an einer zurückgesetzten Mikroelektrode. b) Diffusionsfeld an einem Mikroelektroden-Array: (1) Sphärische Diffusion ohne Überlapp, (2) sphärische Diffusion mit Überlapp, (3) komplette Überlappung der Diffusionsfelder führt zu linearer Diffusion zur Oberfläche, nach [20].

vität mit linearer Diffusion ist, kann von der Lösung von 2.6 für eine einfache Scheibenelektrode im stationären Fall ausgegangen werden. Die entsprechende Stromdichte lautet [21]:

$$j_{\text{diff}} = \frac{4nFDc_0}{\pi r} \quad (2.9)$$

mit  $n$ : Anzahl der beteiligten Elektronen,  $F$ : Faradaykonstante,  $D$ : Diffusionskonstante,  $c_0$ : Bulk-Konzentration des Elektrolyten,  $r$ : Radius der Elektrode.

In der Kavität herrscht lineare Diffusion, daher vereinfacht sich 2.5 auf eine Dimension und mit der Annahme, dass am Rand der Kavität, wo der Übergang zwischen linearer und sphärischer Diffusion stattfindet, die Konzentration  $c_m$  herrscht, ergibt sich:

$$\frac{j_{\text{diff}}}{nF} = D \frac{dc}{dx} = D \frac{c_m}{h} \quad (2.10)$$

mit  $c_m$ : Konzentration am Übergang zwischen linearer und sphärischer Diffusion und  $h$ : Höhe der Isolationsschicht.

Analog zur zurückgesetzten Scheibenelektrode gilt dann am Rand der Kavität:

$$j_{\text{diff}} = \frac{4nFD(c_0 - c_m)}{\pi r} \quad (2.11)$$

Da die Stromdichte in 2.10 identisch ist mit der in 2.11, kann eingesetzt und nach  $c_m$  aufgelöst werden:

$$c_m = \frac{4hc_0}{4h + \pi r} \quad (2.12)$$



---

Einsetzen von diesem Ausdruck in 2.10 ergibt die Diffusionsgrenzstromdichte an der zurückgesetzten Elektrode:

$$j_{\text{diff}} = 4nFD \frac{c_0}{4h + \pi r} \quad (2.13)$$

Im Vergleich zu einer Scheibenelektrode mit den gleichen Dimensionen ist hier die Diffusionsgrenzstromdichte um den Faktor  $\left(\left(\frac{4h}{\pi r}\right) + 1\right)$  kleiner.

Schaltet man mehrere Mikroelektroden zu einem Ensemble zusammen, können sie unter bestimmten Umständen als eine große Elektrode betrachtet werden. Dies ist abhängig vom quadratischen Verhältnis von Elektrodendurchmesser  $d$  zum Abstand zwischen den Elektroden  $L$  und der Dicke der Nernst-Diffusionsschicht  $\delta_N$ . Ist  $\delta_N$  klein, zum Beispiel bei Betrachtung kurzer Zeitskalen, bildet jede Elektrode ihr eigenes Diffusionsfeld aus, wie in Abbildung 2.5 b) in (1) gezeigt ist. Größer werdendes  $\delta_N$  oder kleinerer Abstand  $L$  führt zur Überlappung der sphärischen Diffusionsfelder (2). Im Grenzfall großer Zeitskalen überlappen sich die Diffusionsfelder der einzelnen Mikroelektroden so stark, dass alle Mikroelektroden zusammen wie eine große Elektrode erscheinen und lineare Diffusion vorherrscht. Dieser Fall ist in (3) gezeigt [20, 21].

---

## Korrosion

---

Ein bei Metallen häufig auftretendes elektrochemisches Phänomen ist die Korrosion. Darunter ist die anodische Auflösung und Schädigung des Materials, ohne dass ein äußerer Strom fließt, zu verstehen [15]. Die Redoxreaktionen laufen dabei freiwillig ab, da die meisten Metalle im Kontakt mit Sauerstoff thermodynamisch nicht stabil sind. Mit der Ausnahme von Gold liegen sie in der Natur nur als Erze in Verbindungen mit anderen Elementen beispielsweise als Oxide vor. Korrosion ist daher das Bestreben von Metallen, in den der Umgebung entsprechenden energetisch günstigsten Zustand zu gelangen. Von großer technischer Bedeutung ist daher der Korrosionsschutz. Die Hauptstrategien zur Vermeidung sind: Kathodischer Schutz durch eine Opferanode, eine geeignete Beschichtung sowie an die Situation angepasstes Design und Materialauswahl.

Ein Spezialfall ist die Biokorrosion, was einer durch Mikroorganismen hervorgerufene oder beförderte Materialbeschädigung entspricht. Dabei kommt es an Oberflächen, die Feuchtigkeit ausgesetzt sind, zur Bildung eines Biofilms aus zum Beispiel aus Bakterien, Zellen oder Algen. Die Zersetzung der Oberfläche erfolgt dann durch Stoffwechselprozesse oder Ausscheidungen der Mikroorganismen, oder wird von ihnen katalysiert [25]. Je korrosionsbeständiger ein Material ist, desto besser ist seine Biokompatibilität [26].

---

## 2.2 Elektrodenmaterialien

---

Die Funktion der Elektrode wird von den chemischen und physikalischen Eigenschaften des zugrundeliegenden Materials bestimmt. Für neuronale Schnittstellen sind die wichtigsten Anforderungen an das Material die elektrische Leitfähigkeit und die Biokompatibilität. Typischerweise werden daher metallische Materialien, wie Gold, Platin und Titannitrid verwendet. Eine neuere Materialklasse ist die der Kohlenstoffnanomaterialien, die sich durch viele positive Eigenschaften auszeichnen und Gegenstand aktueller Forschung sind. In diesem Abschnitt sollen daher Aufbau und Eigenschaften von Graphen und Kohlenstoffnanoröhren ausführlich behandelt werden und zum Vergleich auch die der metallischen Elektrodenmaterialien.

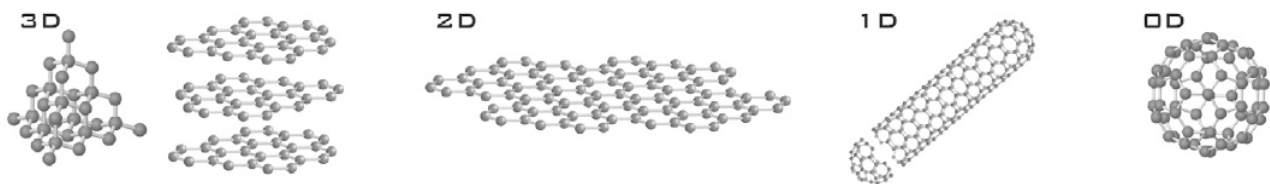
---

### 2.2.1 Graphen

---

In seiner elementaren Form kommt Kohlenstoff in verschiedenen Modifikationen vor. Die Kristallstrukturen einiger Kohlenstoffallotrope sind in Abbildung 2.6 gezeigt. Die bekanntesten sind die dreidimensionalen Allotrope Graphit und Diamant. Diamant kristallisiert im kubisch flächenzentrierten Kristallsystem und ist das härteste bekannte Material, während Graphit aus zweidimensionalen Lagen aufgebaut ist, die nur schwach untereinander gebunden sind. Eine einzelne Graphitschicht wird als Graphen bezeichnet. Sie zu isolieren wurde lange als unmöglich angesehen, da aus theoretischen Überlegungen ein zweidimensionaler Kristall als thermodynamisch instabil galt [27, 28, 29]. Graphen wurde zuerst hergestellt und nachgewiesen von Andre Geim und Konstantin Novoselov im Jahr 2004, wofür der Nobelpreis 2010 vergeben wurde [8, 30].

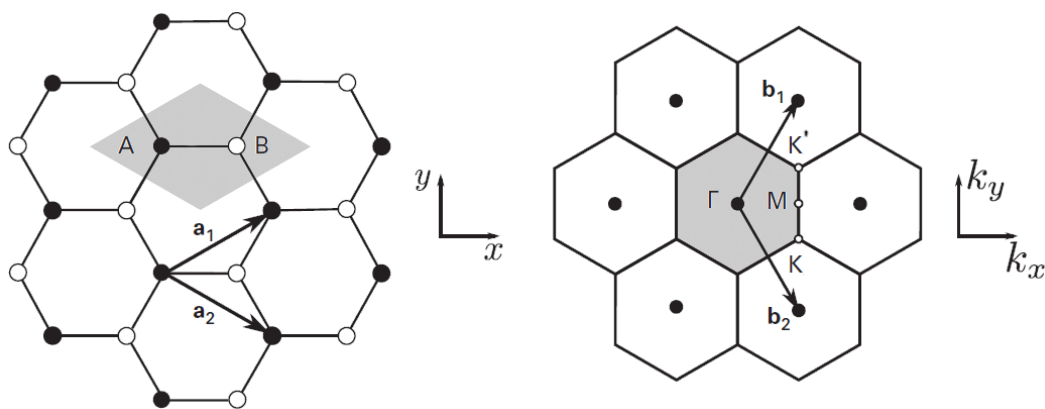
Eine eindimensionale Modifikation sind Kohlenstoffnanoröhren (CNT, carbon nanotube). Sie entsprechen einem Hohlzylinder aus Graphen, während Fullerene eine Hohlkugel-Struktur aufweisen [31]. Da ihre Ausdehnung in mindestens einer Dimension in der Größenordnung von Nanometern liegt, werden Fullerene, Kohlenstoffnanoröhren und Graphen zu den Kohlenstoffnanostrukturen gezählt.



**Abbildung 2.6.:** Ausgewählte Allotrope des Kohlenstoffs und ihre Dimensionalität: Diamant und Graphit sind dreidimensionale Kristalle, Graphen ist ein zweidimensionaler Kristall, Nanoröhren können als eindimensional betrachtet werden und Fullerene als nulldimensional [31].

Der Übergang zwischen Graphen und Graphit lässt sich gut anhand ihrer elektronischen Eigenschaften nachvollziehen. Die spezifischen Eigenschaften von Graphen sind nur für ein bis zweilagige Schichten ausgeprägt (SLG, single layer graphene) und eine komplette 3D-Charakteristik ergibt sich bei  $>10$  Lagen. Die dazwischenliegenden Kristalle mit 3 – 10 Schichten werden oft als mehrlagiges Graphen (FLG, few layer graphene) bezeichnet [32]. Die genauen Eigenschaften hängen aber auch von der Stapelfolge der einzelnen Lagen ab, die hexagonal (AB), trigonal (AA) oder turbostratisch sein kann. Während bei den ersten beiden Stapelfolgen die einzelnen Schichten geordnet übereinander liegen, weisen sie im turbostratischen Fall keine feste geometrische Korrelation zueinander auf, sondern sind gegeneinander verdreht [33, 34].

Viele der speziellen Eigenschaften des Graphens lassen sich durch seine Struktur erklären. Als zweidimensionaler Kristall besteht Graphen aus einer Monolage  $sp^2$ -hybridisierter Kohlenstoffatome, die in einem hexagonalen Gitter angeordnet sind. Jedes Atom ist dabei über drei gleichwertige  $\sigma$ -Bindungen mit seinen drei nächsten Nachbarn in der Ebene verbunden, während von den nicht hybridisierten  $\pi$ -Orbitalen ein delokalisiertes  $\pi$ -Bindungssystem ausgebildet wird. Der Abstand zwischen zwei Kohlenstoffatomen beträgt dabei jeweils  $1,42 \text{ \AA}$  [35]. In Abbildung 2.7 ist links die reale Gitterstruktur von Graphen und rechts das Gitter im reziproken Raum gezeigt. A und B sind die beiden Atome des jeweiligen Untergitters und  $a_1$  und  $a_2$  sind die Gittervektoren. Im reziproken Raum sind die Gittervektoren mit  $b_1$  und  $b_2$  bezeichnet,  $\Gamma$ , M, K und  $K'$  sind besondere Symmetriepunkte der Brillouin-Zone. Die graue Flächen stellen jeweils die Elementarzellen dar.

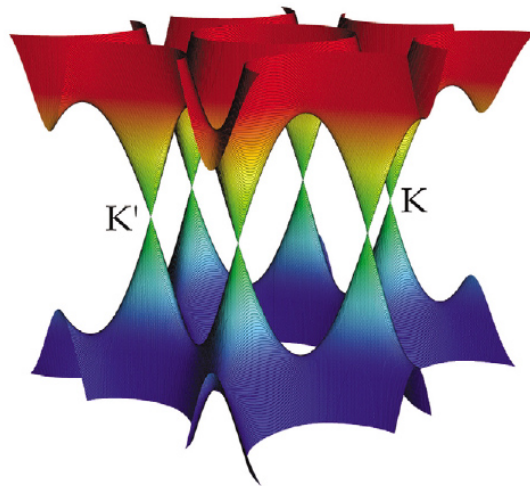


**Abbildung 2.7.:** Kristallstruktur von Graphen: Links reales Gitter und rechts Gitter im reziproken Raum. Die Einheitszelle ist jeweils grau hinterlegt und die Gittervektoren  $a_1$  und  $a_2$  im realen Raum, beziehungsweise  $b_1$  und  $b_2$  für den reziproken Raum, bilden die kristallographische Basis. Im reziproken Raum sind zusätzlich die Symmetriepunkte der Brillouin-Zone eingezeichnet [36].

Die elektronischen Eigenschaften von Graphen lassen sich gut mit dem Tight-Binding-Modell beschreiben [31]. Dabei wird davon ausgegangen, dass die Elektronen stark an die einzelnen Atome gebunden sind und nur wenig von den Potentialen der übrigen Atome beeinflusst werden. Der Ansatz für die Lösung der Schrödingergleichung geht daher von einer Linearkombination der atomaren Wellenfunktionen der nächsten Nachbaratome aus. Je mehr Nachbaratome in der Berechnung berücksichtigt werden, desto genauer ist das Ergebnis [37]. Die resultierende Bandstruktur ist in Abbildung 2.8 für die Brillouin-Zone gezeigt. Die Spitzen der kegelförmigen Dispersionsrelationen berühren sich an den K-Punkten, wo auch die Fermi-Energie liegt. Deswegen kann Graphen entweder als Halbmetall oder als Halbleiter ohne Bandlücke aufgefasst werden. Die Besonderheit liegt zusätzlich in der Linearität der Dispersionsrelation nahe der K-Punkte, weswegen die Ladungsträger in Graphen nahe der K-Punkte als masselose Dirac-Fermionen beschrieben werden können [38].

Graphen zeichnet sich durch eine extrem hohe Mobilität der Ladungsträger von  $10^6 \text{ cm}^2/\text{Vs}$  bei Raumtemperatur aus, was zu einer hohen Leitfähigkeit führt. Aufgrund der besonderen Bandstruktur findet keine Rückstreuung der Ladungsträger statt und sie können über eine große Distanz ballistisch transportiert werden. Dies ermöglicht, unter anderem, die Beobachtung des Quanten-Hall-Effektes bei Raumtemperatur. Die Mobilität ist nur durch die Streuung an Defekten und akustischen Phononen limitiert, aber auch das Substrat beeinflusst die elektrischen Eigenschaft negativ, da Streuung an der Substratoberfläche auftreten kann [39]. Die höchsten Mobilitäten können daher nur in suspendierten, defektfreien

Monolagen oder in Proben auf sehr reinen Substraten gemessen werden. Defekte im Graphengitter können intrinsischer oder extrinsischer Natur sein. Intrinsische Defekte sind Punktdefekte wie Vakanzen und strukturelle Defekte wie Versetzungen, Linienfehler und Korngrenzen, während extrinsische Defekte von Verunreinigungen mit Fremdatomen ausgehen. Weiterhin können auch Wellen, Falten, die Anzahl der Lagen, Dotierung sowie Funktionalisierung der Oberfläche die elektrischen Eigenschaften beeinflussen [40].



**Abbildung 2.8.:** Die Bandstruktur von Graphen berechnet mit dem Tight-Binding-Modell und dargestellt im reziproken Raum. Nahe der K-Punkte ist die Bandstruktur kegelförmig, was einer linearen Dispersionsrelation entspricht [31].

Trotz einer Dicke von nur 0,34 nm, was einer Atomlage entspricht, ist Graphen mechanisch sehr stabil. Es ist reißfest und gleichzeitig elastisch und flexibel, mit einem Elastizitätsmodul von 1 TPa und einer Zugfestigkeit von 130 GPa [9]. Die C-C Bindung ist energetisch besonders günstig, was eine hohe chemische Stabilität zur Folge hat, die sich zum Beispiel in einer erhöhten Korrosionsresistenz zeigt. Zusätzlich ist Graphen undurchlässig für Gase wie Helium [10] und zeigt eine hohe Wärmeleitfähigkeit von  $5,3 \cdot 10^3$  W/Km [11]. Eine weitere Eigenschaft ist die Transparenz für sichtbares Licht mit einer Absorption von 2,3 % pro Lage.

---

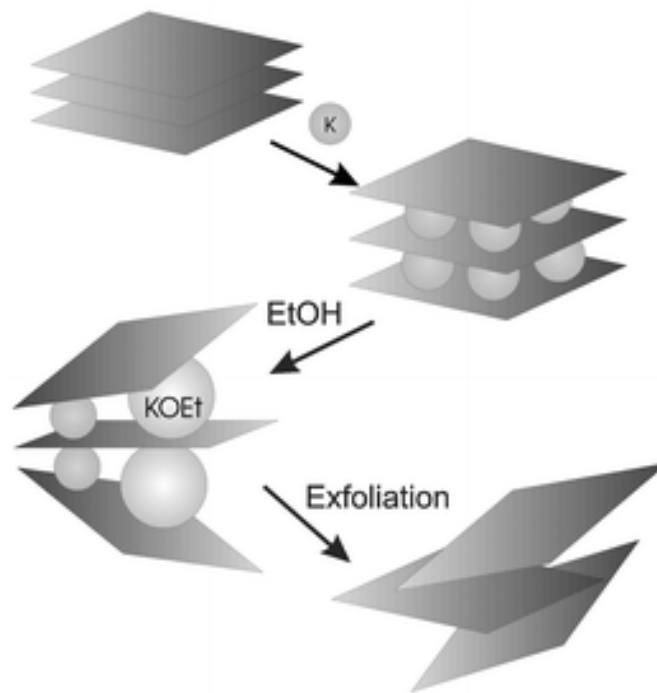
## Herstellungsmethoden

---

Graphen kann mit verschiedenen Methoden hergestellt werden, die unterscheidbar sind in Top-down und Bottom-up Ansätze. Erstere gehen von Graphit aus und isolieren daraus einzelne Graphenschichten, zum Beispiel durch mechanische oder chemische Exfoliation. Bei letzteren werden molekulare Vorläufer genutzt um Graphen direkt auf einem Substrat zu synthetisieren. Die verschiedenen Methoden sowie ihre jeweiligen Vor- und Nachteile sollen hier beschrieben werden.

Die bekannteste und zuerst beschriebene Methode ist die mechanische Exfoliation [8, 30]. Dabei werden ausgehend von einem Graphiteinkristall unter Einsatz von Klebeband einzelne Graphenschichten isoliert und auf ein Substrat aufgebracht. Durch anschließende Untersuchung mit optischen oder taktilen Methoden lässt sich das Graphen lokalisieren und charakterisieren. So können qualitativ hochwertige, defektfreie Graphenmonolagen identifiziert werden, allerdings ist die Ausbeute gering und die Größe der Graphenkristalle begrenzt. Dazu kommt mangelnde Reproduzierbarkeit und ein hoher Zeitaufwand, was diese Methode für technische Anwendungen wenig attraktiv macht [41]. Chemische Exfoliation erfolgt nach dem selben Prinzip, allerdings werden die einzelnen Graphitschichten auf chemischen Weg von-

einander getrennt. Dafür werden Fremdatome zwischen den Schichten eingebaut und anschließend die einzelnen Schichten durch chemische Reaktionen voneinander getrennt [42]. In Abbildung 2.9 ist der Vorgang am Beispiel von Kalium schematisch gezeigt. Alkalimetallionen sind klein genug um zwischen die Graphitschichten zu gelangen und lagern sich unter passenden Bedingungen dort an. Durch anschließender Reaktion mit wässriger Ethanol-Lösung lassen sich die Schichten voneinander trennen. Mit dieser Methode kann ein hoher Durchsatz erreicht werden, allerdings sind die einzelnen Stücke klein, variieren stark in der Schichtdicke und können verunreinigt mit den verwendeten Reagenzien sein. Die hohe Qualität des mechanisch exfolierten Graphen wird nicht erreicht [11, 43].



**Abbildung 2.9.:** Schematische Darstellung der chemischen Exfoliation von Graphen. Graphit wird durch Interkalation mit Kalium und anschließender Reaktion mit wässriger Ethanol-Lösung in einzelne Schichten zerlegt, aus [42].

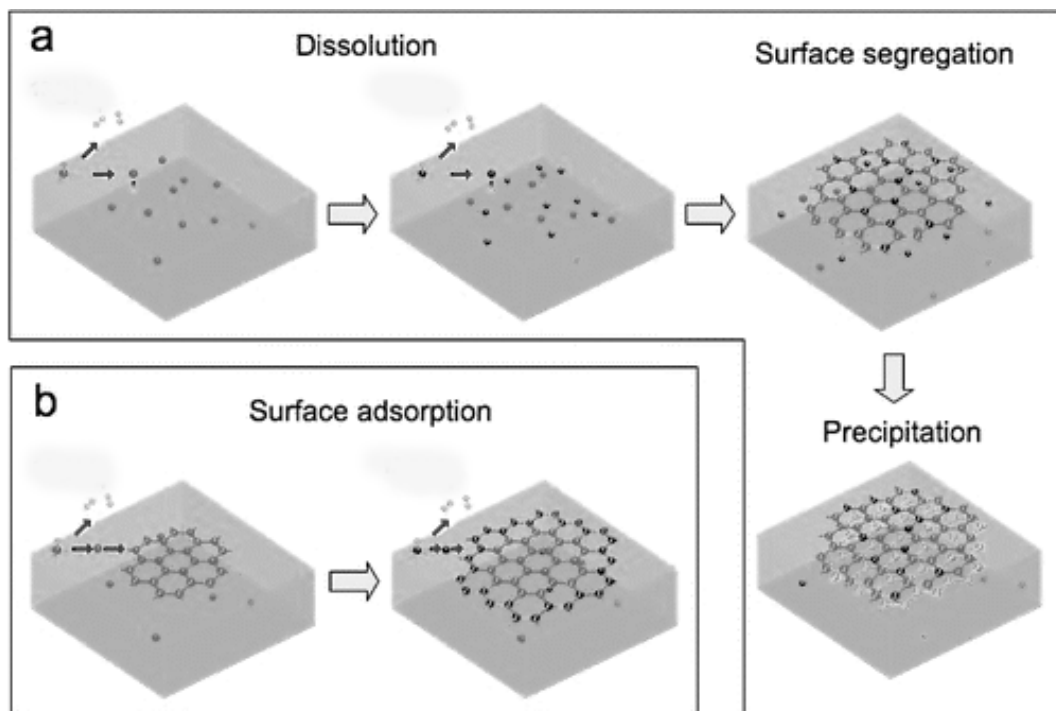
Ausgehend von Graphenoxid (GO) kann nach dem selben Grundprinzip reduziertes Graphenoxid (rGO) hergestellt werden. Nach der Vereinzelung der Schichten wird das GO reduziert, was auf thermischen, chemischen, elektrochemischen oder photochemischen Weg erfolgen kann [44, 45]. Allerdings unterscheidet sich rGO aufgrund seiner hohen Defektdichte und Fehlstellen stark von dem mit anderen Methoden hergestellten Graphen.

Eine weit verbreitete Bottom-up Herstellungsmethoden ist die chemische Gasphasenabscheidung (CVD, chemical vapor deposition), bei der Graphen aus der Gasphase auf einem Trägermaterial abgeschieden wird. Die Vorteile liegen im einfachen Prozess, der Reproduzierbarkeit und der Möglichkeit große Graphenkristalle von guter Qualität zu erzeugen. Der Nachteil ist, dass im Anschluss an die Herstellung ein Transfer auf ein anderes Substrat notwendig ist [46, 47].

CVD kann rein thermisch oder mit Unterstützung von Plasma erfolgen. In beiden Fällen wird ein Metallsubstrat bei hohen Temperaturen einem Kohlenwasserstoffgas ausgesetzt. Die Metalloberfläche katalysiert die Zersetzung des Gas in Kohlenstoff und Wasserstoffgas. Als Substrat kommt dafür eine Reihe von Metallen wie zum Beispiel Kupfer, Nickel, Platin, Kobalt, Eisen, Germanium und Palladium zum Einsatz, wobei Kupfer und Nickel am häufigsten verwendet werden [48]. Je nach Löslichkeit von Kohlenstoff in dem Metall unterscheidet sich der Mechanismus, mit dem das Graphen auf der Substratoberfläche

wächst. In Abbildung 2.10 sind die Mechanismen für a) Nickel und b) Kupfer gezeigt. Nickel hat eine Löslichkeit für Kohlenstoff von 2,03 mol % bei 1000° C, sodass sich nach Zersetzung des Gas der Kohlenstoff im Metall löst. Beim Abkühlen sinkt die Löslichkeit von Kohlenstoff ab, was dazu führt, dass Graphen an der Oberfläche ausfällt. Kupfer hat dagegen eine niedrige Löslichkeit, sodass hier die Kohlenstoffatome direkt an der Oberfläche adsorbiert werden und sich zu Graphen zusammen lagern [49]. Kupfer hat dabei den Vorteil, dass weiteres Wachstum unterbunden wird, sobald die gesamte Oberfläche mit Graphen bedeckt ist. Zusätzlich findet auf Kupfer das Graphenwachstum unabhängig von den Korn- grenzen und Unebenheiten der Substrat-Oberfläche statt, während bei Nickel eine möglichst defektfreie Oberfläche vorhanden sein sollte, um qualitativ hochwertiges Graphen zu erhalten [50].

Für den anschließenden Transfer wird ein Polymer auf die Graphenschicht aufgetragen, um sie zu stabilisieren und dann das Metallsubstrat mittels einer Ätzlösung entfernt. Anschließend kann das Graphen auf ein beliebiges anderes Substrat transferiert werden und die Polymerschicht wieder entfernt werden. Allerdings können durch den flächigen Kontakt mit dem Polymer Verunreinigungen auf der Graphenoberfläche zurück bleiben, die anschließend aufwändig entfernt werden müssen [46, 51, 52]. Der Transfer ist deswegen der kritische Schritt für CVD-Graphen, da es hierbei leicht zu Rissen, Defekten und Verunreinigungen durch Polymerrückstände oder Metallreste vom Katalysator kommen kann [40].



**Abbildung 2.10.:** Mechanismen zur Bildung von CVD-Graphen auf a) Nickel und b) Kupfer. Nach der Zersetzung des Gas löst sich der Kohlenstoff in Nickel und setzt sich erst beim Abkühlen an der Oberfläche ab. Kupfer hat eine niedrige Löslichkeit für Kohlenstoff, weswegen sich das Graphen direkt an der Oberfläche bildet, aus [49].

Eine weitere Methode, um Graphen von hoher Qualität und im großem Maßstab herzustellen ist epitaktisches Wachstum auf Siliziumcarbid. Bei Temperaturen über 1000° C wird das Material in Silizium und Kohlenstoff zersetzt und es bildet sich eine Graphenschicht auf der Oberfläche. Dieser Prozess ist aufwändig und teuer und benötigt ebenfalls einen anschließenden Transferprozess, der sich hier allerdings schwierig gestaltet [53, 54].



---

## Anwendungspotentiale von Graphen

---

Aufgrund seiner Eigenschaften gibt es für Graphen eine Vielzahl an potentiellen Anwendungen. Die hervorragenden elektrischen Eigenschaften machen den Einsatz als Transistormaterial attraktiv. Allerdings hat SLG keine Bandlücke und eignet sich daher nicht für schaltbare Logiken. Dieses Problem kann jedoch gelöst werden, da durch Dotierung, mechanische Spannung, Randeffekte oder durch Verwendung von FLG eine Bandlücke erzeugt werden kann [55, 56]. Durch die hohe Leitfähigkeit in Kombination mit der hohen Transparenz ist Graphen für transparente Elektroden geeignet. Als solche kann es zum Beispiel in Solarzellen, Photodetektoren und LCD-Displays zum Einsatz kommen [57, 58, 59]. Weitere Anwendungsmöglichkeiten liegen im Bereich der Energiespeicherung mit Superkondensatoren [60] oder zur Verbesserung der mechanischen Eigenschaften von Kompositmaterialien [61]. Als Gassensor konnte Graphen erfolgreich zur Detektion von beispielsweise Wasser, Ethanol, Kohlenmonoxid, Stickstoffmonoxid und Ammoniak eingesetzt werden [62, 63]. Auch zum Nachweis von Schwermetallionen wie Blei und Cadmium ist Graphen geeignet [64]. Im Bereich der Biosensorik kann Graphen zur Detektion von Proteinen und Zellen, zur Erkennung und Sequenzierung von DNA, als Glukose-Sensor und für neuronale Schnittstellen eingesetzt werden [40, 65, 66]. Details zu den aktuellen Anwendungen als neuronale Schnittstellen sind in Abschnitt 2.5 zu finden.

---

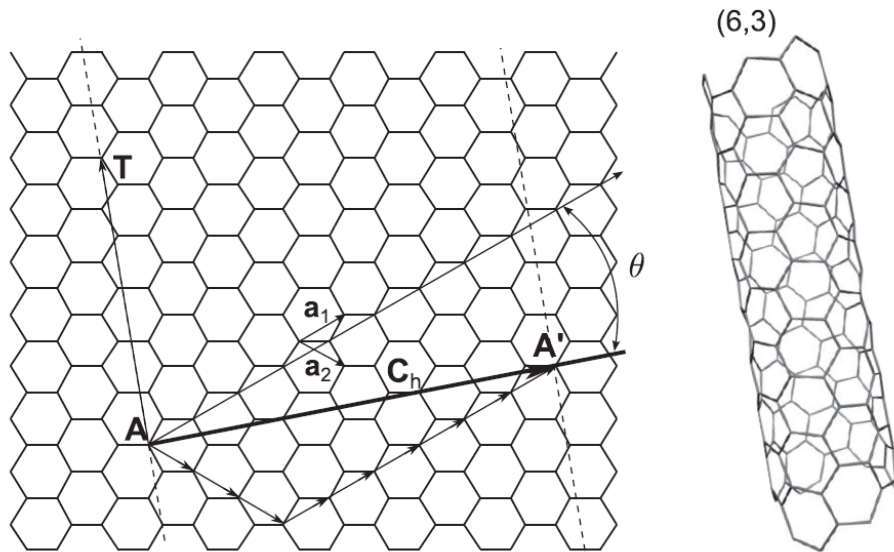
### 2.2.2 Kohlenstoffnanoröhren

---

Der Aufbau von CNTs entspricht einer aufgerollten Graphenlage mit jeweils einem halben Fullerenmolekül als Endkappe. Sie treten als einwandige (SWNT, single-walled carbon nanotube) oder als mehrere konzentrisch ineinandergeschachtelte Röhren auf (MWNT, multi-walled carbon nanotube). In Abbildung 2.11 ist der Aufbau einer CNT aus einem Graphengitter gezeigt. Die Vektoren  $\vec{a}_1$  und  $\vec{a}_2$  sind die Gittervektoren des Graphengitters und  $\theta$  ist der Aufrollwinkel der durch  $\vec{T}$  und  $\vec{C}_h$  begrenzten CNT. Die Punkte A und A' sind im aufgerollten Zustand äquivalent.  $\vec{C}_h$  kann als Linearkombination der Gittervektoren ausgedrückt werden:  $\vec{C}_h = (n \cdot \vec{a}_1, m \cdot \vec{a}_2)n, m \in \mathbb{N}$  und zur eindeutigen Identifikation der CNT benutzt werden. Die dadurch beschriebene Orientierung des Kohlenstoffnetzwerks in Bezug auf die Röhrenachse bestimmt zudem die elektrischen Eigenschaften der CNT. Wenn  $\frac{n-m}{3}$  eine ganze Zahl ergibt, weist die CNT metallisches Verhalten auf; in allen anderen Fällen ist sie halbleitend [36]. Der hier gezeigte allgemeine Fall einer chiralen SWNT mit  $\vec{C}_h = (6,3)$  ist daher metallisch leitend. Bei  $\theta = 30^\circ$  und damit  $\vec{C}_h = (n,n)$  ergibt sich ein Armsessel-Abschluss mit halbleitende Eigenschaften. Für den Fall, dass  $\theta = 0^\circ$  und damit  $\vec{C}_h = (n,0)$  hat die CNT eine Zick-Zack-Endung und ist metallisch leitend. MWNT zeigen mit hoher Wahrscheinlichkeit metallisches Verhalten. Generell sind CNTs gute Wärmeleiter, haben eine hohe Zugfestigkeit entlang der Röhrenachse von 68 GPa [67] und ein Elastizitätsmodul bis 1 TPa [68].

Die Herstellung kann zum Beispiel durch Lichtbogenentladungen erfolgen oder durch katalytische Zersetzung von kohlenstoffhaltigem Gas an einer Metalloberfläche oder einem Metallpartikel [69]. Die Metallpartikel verbleiben dabei entweder am unteren Ende oder am Kopfende der Nanoröhre und können nachträglich entfernt werden. Mit den Parametern des CVD-Prozesses lässt sich der Durchmesser, die Länge und die Einwandig- oder Mehrwandigkeit der CNT steuern. Typische Durchmesser von SWNT sind 1 – 10 nm [68], während MWNT mit bis zu 100 nm dicker sind [37].

Die Untersuchungen von CNTs als Elektrodenmaterial zeigt, dass bei einer Elektrodenfläche von  $707 \mu\text{m}^2$  durch die vergrößerte Oberfläche eine Impedanz von  $2,2 \text{ k}\Omega$  erreicht werden kann [70]. Die für MWNTs gefundenen Potentiale, bei denen es zu elektrochemischer Zersetzung von Wasser kommt, liegen bei  $-1,5 \text{ V}$  und  $1 \text{ V}$  und ermöglichen eine CIC von  $1 - 1,6 \text{ mC/cm}^2$  bei rein kapazitiver Ladungsinjektion [71]. Die Biokompatibilität ist nicht eindeutig bewertet, da eine Verunreinigung mit Metallpartikeln nicht ausgeschlossen werden kann und CNTs aufgrund ihrer Größe von Zellen aufgenommen werden können [69].



**Abbildung 2.11.:** Der Aufbau einer CNT aus einem Graphengitter. Links: Graphengitter mit eingezeichneten Gittervektoren  $\vec{a}_1$  und  $\vec{a}_2$ , den Begrenzungsvektoren der CNT  $\vec{T}$  und  $\vec{C}_h$  und dem Aufrollwinkel  $\theta$ . Die Punkte A und A' sind bei der CNT äquivalent. Rechts: die daraus resultierende chirale CNT mit  $\vec{C}_h=(6,3)$  [36].

### 2.2.3 Metallische Elektrodenmaterialien

In aktuellen Anwendungen kommen vor allem Edelmetalle als Elektrodenmaterialien zum Einsatz. Das liegt in ihrer guten Leitfähigkeit, Verarbeitbarkeit und Korrosionsresistenz begründet. Dazu kommt im medizinischen Einsatz eine hohe Hürde bei der Zulassung von neuen Materialien (Zertifizierung, klinische Studien).

Gold und Platin sind die etabliertesten Materialien. Sie werden am häufigsten eingesetzt, sowohl *in vivo* als auch *in vitro* [6, 72, 73]. Titannitrid ist ein beliebtes Material, vor allem im *in vitro*-Einsatz, mit einer hohen CIC [74] und niedrigem Rauschen [6]. Problematisch bei einem allgemeinen Vergleich dieser Materialien ist, dass deren Eigenschaften als Elektrodenmaterial sehr stark von Form, Größe, Herstellung des Materials und den Bedingungen bei der Charakterisierung abhängig sind, weshalb Kenngrößen aus der Literatur oftmals nur sehr eingeschränkt miteinander verglichen werden können.

#### Gold

Das Edelmetall Gold ist relativ weich, gut verarbeitbar und hat eine hohe mechanische und chemische Stabilität. Seine elektrische Leitfähigkeit beträgt  $45,5 \cdot 10^6 \text{ S/m}$ . Da es wenig reaktiv ist, ist auch die Biokompatibilität gut, allerdings sind manche Goldverbindungen toxisch [75]. Aufgrund seiner Eigenschaften wird es oft als Material für Leiterbahnen und Verbindungselemente eingesetzt. Als Elektrodenmaterial wird es entweder als planare Schicht oder als 3D-Struktur in Form von Nanodrähten [76], pilzförmigen Strukturen [77] oder nanoporösen Schichten [78] verwendet. Die CIC von planarem Gold entspricht mit  $0,02 \text{ mC/cm}^2$  der Kapazität der elektrochemischen Doppelschicht von Metallen [79]. Der Ladungsinjektionsmechanismus ist daher hauptsächlich kapazitiv [80]. Für planare Goldelektroden mit  $40 \text{ }\mu\text{m}$  Durchmesser beträgt die Impedanz bei  $1 \text{ kHz}$  ungefähr  $1 \text{ M}\Omega$  [76].



---

## Platin

---

Platin ist ebenfalls ein Edelmetall und zeichnet sich durch eine hohe chemische Widerstandsfähigkeit und Korrosionsresistenz aus. Gleichzeitig lässt es sich gut verarbeiten und ist relativ weich. Seine elektrische Leitfähigkeit beträgt  $9,48 \cdot 10^6 \text{ S/m}$ . Es ist nicht toxisch, allerdings können Platin-Verbindungen Allergien auslösen [75] und Elektrodenreaktionen können nicht immer vermieden werden. Platin ist daher biokompatibel, aber nicht bioinert. Die Potentiallimits bis zur Gasentwicklung werden mit  $-0,6 \text{ V}$  und  $0,9 \text{ V}$  angegeben [81] und die CIC ist mit  $0,05 - 0,4 \text{ mC/cm}^2$  [72, 82] höher als die von Gold. Deswegen erfolgt der medizinische Einsatz, zum Beispiel in Cochlea-Implantaten, vor allem mit großen Elektroden. Hier ist die geringe CIC nicht relevant und die sicheren Stimulationslimits können leicht eingehalten werden [72]. Die Impedanz bei  $1 \text{ kHz}$  beträgt  $800 - 1100 \text{ k}\Omega$  für planare Elektroden mit einem Durchmesser von  $30 \mu\text{m}$  [83].

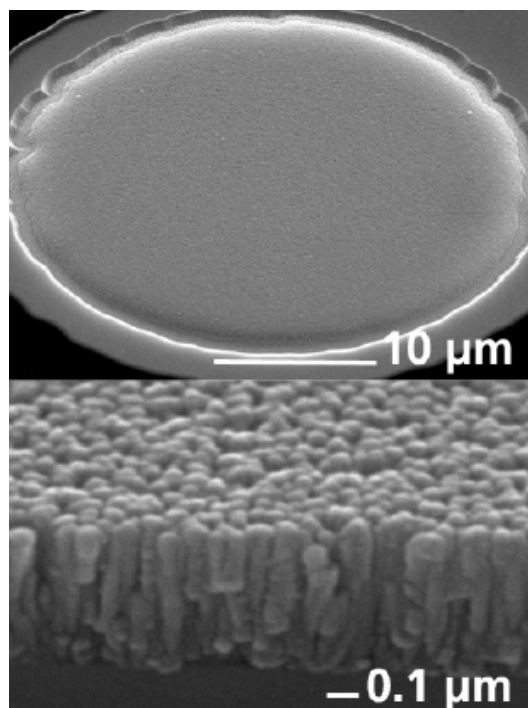
Da der Ladungstransfer auf faradayschen Mechanismen beruht, kann es unter Stimulationsbedingungen auch bei niedrigeren Ladungsdichten zu Korrosion und der Bildung von instabilen Filmen kommen. Korrosion kann bereits bei einer Pulslänge von  $500 \mu\text{s}$  pro Phase und ab einer Stromdichte von  $2 \text{ mA/mm}^2$  auftreten, was einer Ladung von  $0,1 \text{ mC/cm}^2$  entspricht [84]. Obwohl klinische Stimulation mit  $0,9 \text{ mA}$  und  $25 \mu\text{s}$  pro Phase erfolgt [84], was  $22,5 \cdot 10^{-4} \text{ mC/cm}^2$  entspricht, konnten bei Langzeitimplantation (4 – 21 Jahre) Korrosionserscheinungen, Materialabrieb und Immunreaktionen nachgewiesen werden [13]. Ebenfalls als Elektrodenmaterial zum Einsatz kommen Platin-Iridium-Legierungen und poröse Strukturen auf Platinbasis wie Platinschwarz [82].

---

## Titannitrid

---

Titannitrid ( $\text{TiN}$ ) ist ein sehr hartes, aber sprödes keramisches Material, das sich durch eine gute Leitfähigkeit von ungefähr  $10^6 \text{ S/m}$  und hohe Korrosionsresistenz auszeichnet [85]. Es ist nicht toxisch und biokompatibel und wird hauptsächlich in der Form von dünnen, porösen Schichten als Elektrodenmaterial eingesetzt [82]. In Abbildung 2.12 ist eine kommerziell erhältliche Titannitrid-Elektrode von Multi Channel Systems mit einem Durchmesser von  $30 \mu\text{m}$  und einer Fläche von  $707 \mu\text{m}^2$  gezeigt, die durch einen plasmaunterstützten CVD-Prozess hergestellt wurde [6]. Gut zu erkennen ist die vergrößerte Oberfläche durch die säulenartige Nanostruktur. Die Ladungsinjektion erfolgt bei  $\text{TiN}$  ausschließlich kapazitiv und die Potentiallimits liegen bei  $-0,6 \text{ V}$  bis  $0,8 \text{ V}$  [86]. Die große Oberfläche begünstigt einen hohen Wert für die CIC im Bereich von  $0,9 \text{ mC/cm}^2$  bis zu  $23 \text{ mC/cm}^2$  [86, 74]. Die Impedanz der  $\text{TiN}$ -Elektroden liegt bei  $30 - 100 \text{ k}\Omega$  für  $1 \text{ kHz}$  [87]. Zusätzlich ist das Rauschsignal mit  $\pm 10 \mu\text{V}$  sehr niedrig [6]. Für die Stimulation mit  $\text{TiN}$ -Elektroden ist zu vermeiden, dass sich die Elektrode stark positiv auflädt, da sonst Elektrolyse auftritt, die die Elektrode zerstört [87]. Das lässt sich durch ein angepasstes Stimulationsprotokoll vermeiden.



**Abbildung 2.12.:** Rasterelektronenmikroskop-Aufnahme einer TiN-Elektrode. Links: die komplette Elektrode mit einem Durchmesser von  $30\text{ }\mu\text{m}^2$  und rechts eine Vergrößerung der TiN-Strukturen. Deutlich sichtbar ist hier die poröse, säulenförmige Nanostruktur des TiN [87].

---

## 2.3 Elektrophysiologie erregbarer Zellen

---

Erregbare Zellen zeichnen sich durch die Fähigkeit aus, ihre Membranleitfähigkeit kurzfristig verändern zu können und damit elektrische Signale, die Aktionspotentiale, auszubilden und weiterzuleiten. Zu den erregbaren Zellen gehören neuronale Zellen, Muskelzellen und einige sekretorische Zellen [88]. Neuronale Zellen sind spezialisiert auf die Informationsübertragung und -verarbeitung innerhalb des Organismus. Sie wandeln Reize in Aktionspotentiale um, leiten diese weiter und ermöglichen dadurch die Funktion des Nervensystems. Da neuronale Schnittstellen auf der Messung und Anregung dieser Signale basieren, soll hier Funktion und Aufbau von neuronalen Zellen und die Erzeugung und Ausbreitung ihrer Aktionspotentiale beschrieben werden. Herzmuskelzellen sind ebenfalls elektrisch erregbar, allerdings unterscheidet sich ihre Funktion und ihre Aktionspotentiale von denen der Neurone, weswegen auch darauf kurz eingegangen wird. Zusätzlich ist die Wechselwirkung der Zellen mit ihrer Umgebung, wie die Adhäsion auf einem Substrat, relevant für die Schnittstelle zwischen Elektrode und Zelle.

---

### 2.3.1 Neuronale Zellen

---

Der allgemeine Aufbau eines Neurons unterscheiden sich von anderen Zellen im Organismus hauptsächlich durch lange Fortsätze, die vom Zellkörper (Soma) ausgehen und mit denen sie sich mit anderen Neuronen vernetzen können. Eine einzelne Zelle kann so mit bis zu 30.000 anderen verbunden sein [89]. In Abbildung 2.13 ist der schematische Aufbau eines Neurons gezeigt.

Im Soma befindet sich der Zellkern und die Organellen, die für den Zellstoffwechsel zuständig sind. Die weitverzweigten Dendriten dienen dabei als Eingang für Signale von anderen Nervenzellen, während das Axon die Weiterleitung übernimmt. Der Übergang zwischen Soma und Axon, der Axonhügel, ist für die Signalgenerierung besonders wichtig, da hier alle Signale von den Dendriten zusammenlaufen und summiert werden. Wird dabei ein Schwellwert überschritten, werden Aktionspotentiale im darauffolgenden initialen Axonsegment ausgelöst und über das Axon weitergeleitet. Das Axon ist meist von einer Myelinscheide, die aus den Fortsätzen von Oligodendrozyten gebildet wird, umgeben. In regelmäßigen Abständen wird sie von den Ranvier-Schnürringen unterbrochen. An seinem Ende ist es meist stark verzweigt und endet mit Endknöpfchen an der Synapse, dem Übergang zu den Dendriten eines anderen Neurons oder zu einer anderen Zelle [89, 90].

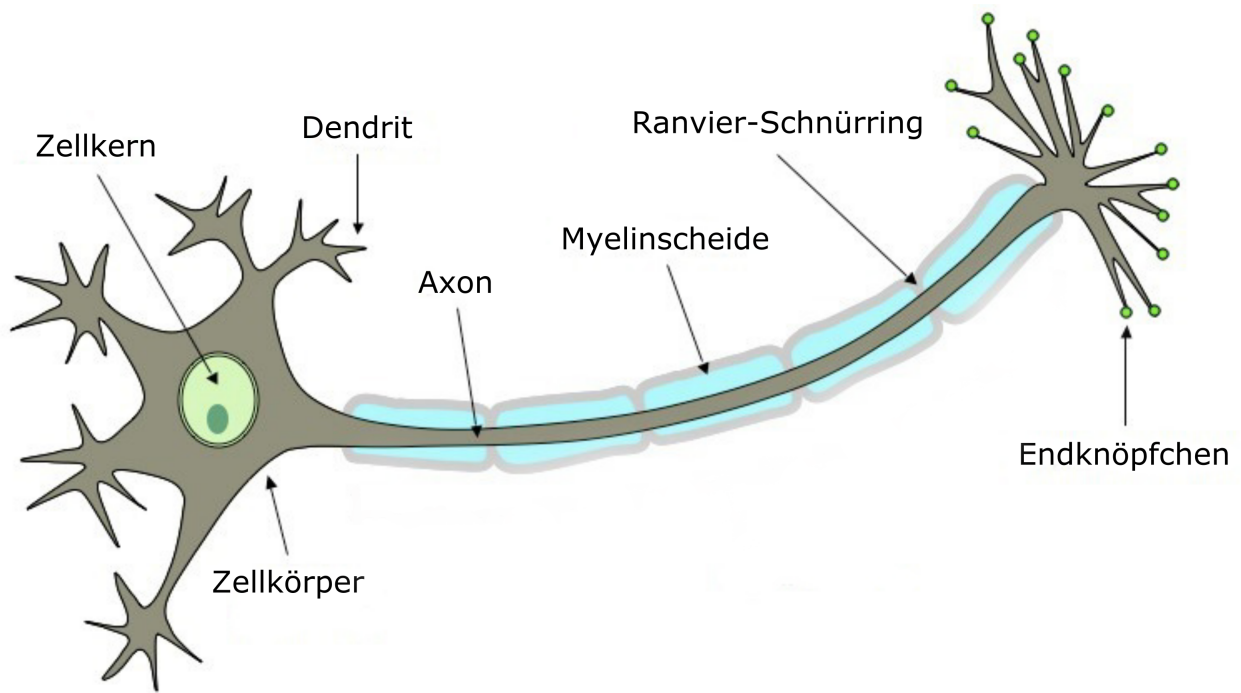
Für die Funktion einer Nervenzelle ist die Zellmembran als nichtlinearer Ionenleiter von entscheidender Bedeutung. Sie besteht aus einer 5 nm dicken Lipid-Doppelschicht mit eingelagerten Transmembranproteinen, die den Durchtritt von Ionen durch die Membran ermöglichen und regulieren. Diese Proteine werden als Ionenkanäle bezeichnet und können aktiv transportieren oder passiv den Durchtritt von Ionen entlang des Konzentrations- oder Potentialgefälles erlauben. Dabei sind sie meist selektiv für eine Ionensorte und ihre Durchlasseigenschaften können je nach Kanalsorte durch elektrisches Potential, Transmittermoleküle oder andere äußere Parameter gesteuert werden.

---

### 2.3.2 Signalerzeugung und Weiterleitung

---

Die Kommunikation zwischen Nervenzellen wird durch die Weiterleitung eines elektrischen Potentialmaximums (Aktionpotential, AP) entlang des Neurons ermöglicht. Seine extrazelluläre Ableitung wird als Spike bezeichnet. Ohne äußere Einflüsse stellt sich über die Membran das Ruhepotential ein, wobei das Innere der Zelle um 70 mV negativer als der extrazelluläre Raum ist. Dafür sorgt eine unterschiedliche Ionenkonzentration im intra- und extrazellulären Raum. Intrazellulär ist die Kaliumionenkonzentration höher als die der Natriumionen, extrazellulär ist es umgekehrt. Das Ruhepotential wird dabei hauptsächlich durch das Gleichgewichtspotential der Kaliumionen bestimmt und kann entsprechend mit der Nernst-Gleichung 2.3 berechnet werden. Um diesen Zustand aufrecht zu erhalten, ist ständig

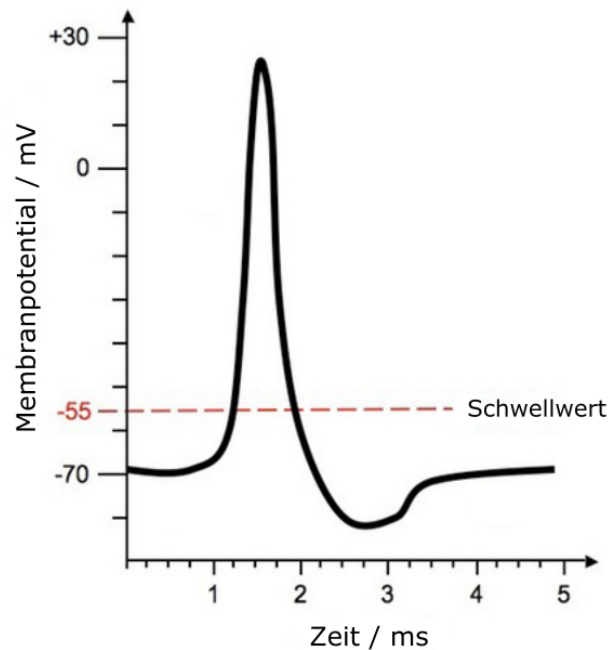


**Abbildung 2.13.:** Schematischer Aufbau eines Neurons mit myelinisiertem Axon, nach [91].

die Natrium-Kalium-Pumpe, ein Transmembranprotein, aktiv. Sie transportiert unter ATP-Hydrolyse jeweils drei  $\text{Na}^+$ -Ionen aus der Zelle hinaus und zwei  $\text{K}^+$ -Ionen hinein. Gleichzeitig ist im Ruhezustand die Zellmembran durch Kaliumkanäle permeabel für Kaliumionen, was dazu führt, dass diese entlang ihres Konzentrationsgefälles aus der Zelle heraus diffundieren. Natriumionen dagegen gelangen durch Leckströme wieder in die Zelle hinein. Diese Vorgänge halten hauptsächlich das Konzentrations- und Potentialgefälle zwischen intra- und extrazellulärem Raum aufrecht.

Kommt es durch externe Reize oder von den Dendriten ankommende Signale am Axonhügel durch Depolarisation zum Erreichen des Schwellwerts von ungefähr  $-55 \text{ mV}$ , wird ein AP ausgelöst. Die intrazelluläre Ableitung eines AP ist in Abbildung 2.14 gezeigt. Nach Überschreitung des Schwellwertes findet lokal eine Depolarisation der Membran bis  $+30 \text{ mV}$  statt. Sie wird ausgelöst durch das schnelle, spannungsgesteuerte Öffnen von Natriumkanälen, durch die Natriumionen entlang ihres Konzentrations- und Potentialgefälles in die Zelle einströmen. Durch das dadurch veränderte Transmembranpotential öffnen sich wiederum Kaliumkanäle, durch die Kaliumionen aus der Zelle ausströmen, somit der Depolarisation entgegenwirken und die Repolarisation bewirken. Im Anschluss daran schließen sich die Natrium- und Kalium-Kanäle wieder. Da sich die Kaliumkanäle nur langsam schließen kommt es zur Hyperpolarisation, bei der das Potential kurzzeitig unter den Ausgangswert fällt. In der anschließenden Refraktärphase muss die Natrium-Kalium-Pumpe aktiv für einen Ausgleich sorgen, um den Ausgangszustand wieder herzustellen. Ein AP dauert  $1 - 2 \text{ ms}$ . Direkt danach, in der  $1 \text{ ms}$  langen absoluten Refraktärphase, kann dieser Membranabschnitt nicht mehr depolarisiert werden, was auch für eine unidirektionale Ausbreitung der Pulse sorgt. In der darauffolgenden relativen Refraktärphase kann nur ein verstärkter Stimulus ein AP auslösen. Die Auslösung und Weiterleitung eines AP verbraucht dabei keine Energie, nur die Wiederherstellung und Aufrechterhaltung des Ruhepotentials ist mit einem Energieumsatz verbunden.

Wurde ein AP ausgelöst, pflanzt es sich entlang des Axons fort, bis es die Endknöpfchen erreicht. Die Geschwindigkeit der Ausbreitung ist dabei davon abhängig, ob eine Myelinscheide vorliegt oder nicht. Dendriten und kurze Axone sind in der Regel nicht myelinisiert. Durch das Ausbilden eines AP wird da-



**Abbildung 2.14.:** Zeitlicher Membranpotentialverlauf eines neuronalen Aktionspotentials. Nach Überschreitung des Schwellwertes kommt es zur schnellen Depolarisation der Zellmembran, gefolgt von einer ebenso schnellen Repolarisation. Im Anschluss wird das Ruhepotential kurzzeitig unterschritten bis es nach der Refraktärphase aktiv wieder hergestellt ist, nach [91].

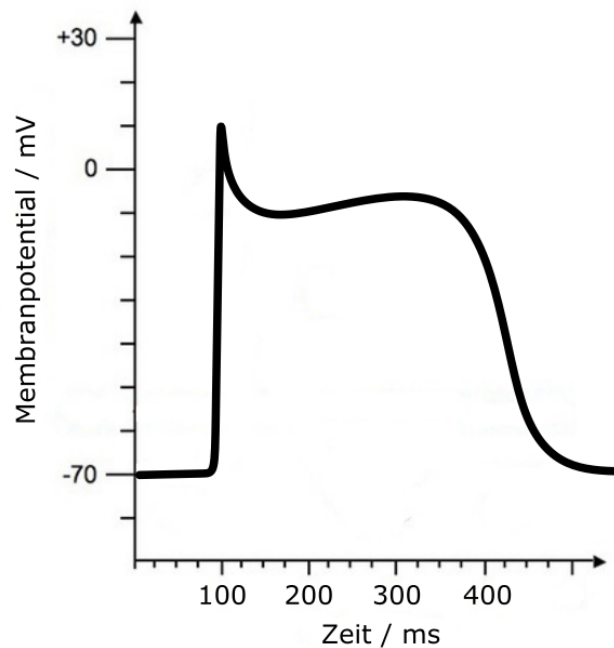
bei direkt der nächste Axonabschnitt depolarisiert und ein AP ausgelöst. Das Signal pflanzt sich dadurch kontinuierlich mit ungefähr 0,4 m/s fort [89]. Ist das Axon mit einer Myelinscheide umgeben, erfolgt die Reizweiterleitung saltatorisch. Die Myelinscheide wird durch Fortsätze von Oligodendrozyten gebildet und dient als Isolation der Axonmembran gegenüber dem extrazellulären Raum. An den frei liegenden Stellen, den Ranvier-Schnürringen, konzentrieren sich die Ionenkanäle und bilden das AP aus. Typischerweise werden dann die AP mit Geschwindigkeiten in der Größenordnung von 10 m/s [90] aber auch in einigen Fällen mit bis zu 200 m/s [89] weitergeleitet.

Erreicht das AP das präsynaptische Ende des Axons, werden Neurotransmitter in den synaptischen Spalt zwischen den Zellen freigesetzt, welche an Rezeptoren an der postsynaptischen Zelle binden. Dadurch werden dort Ionenkanäle geöffnet und erzeugen bei ausreichendem Stimulus erneut ein AP. Unabhängig davon, wie stark der auslösende Stimulus war, hat ein AP immer den gleichen Potentialverlauf. Die Stärke des Stimulus wird entweder durch viele aktive Zellen, die gleichzeitig angeregt sind, oder durch eine Serie von kurz hintereinander ausgelösten AP, einem Burst, kodiert [92].

### 2.3.3 Kardiomyozyten

Herzmuskelzellen sind ebenfalls elektrisch erregbare Zellen, die sich in zwei Typen einteilen lassen: Schrittmacherzellen und Kardiomyozyten der Arbeitsmuskulatur. Erstere zeichnen sich durch die Fähigkeit aus, spontan AP zu generieren und an die anderen Zellen weiterzuleiten, während die Zellen des anderen Typs nur die Kontraktion ausführen. Die einzelnen Zellen sind dabei direkt über elektrische Synapsen (gap junctions) miteinander verbunden und bilden ein funktionelles Synzytium. Das bedeutet, dass anders als bei Neuronen, die Zellplasma der Herzmuskelzellen direkt miteinander verbunden sind und dadurch Ionen direkt ausgetauscht und AP weitergeleitet werden können [88]. Das AP unterscheidet sich in Amplitude und Verlauf von denen der Neurone [93], zusätzlich dauert das AP mit

bis zu 350 ms deutlich länger. In Abbildung 2.15 ist eine typische intrazelluläre Ableitung eines kardialen AP gezeigt. Es zeichnet sich durch eine schnelle Depolarisation mit anschließender partieller Repolarisation aus, die in eine lange Plateauphase übergeht und schließlich auf das Ausgangspotential wieder abfällt. Die erste Phase des AP wird durch die schnelle Öffnung von Natriumkanälen bewirkt. Während der Plateauphase kommt es zu Kalziumeinstrom, der weitere Kalziumfreisetzung aus dem sarkoplasmatischen Retikulum aktiviert und damit die Kontraktion der Myofilamente bewirkt. Während der Repolarisationsphase werden die Ionenkonzentrationen des Ruhezustandes aktiv wieder hergestellt. In der anschließenden Refraktärphase ist die Zelle nicht wieder erregbar. Die normale Schlagrate eines menschlichen Herzen beträgt 1 – 1,6 Hz und die Leitungsgeschwindigkeit kardialer AP 1 – 4 m/s [94].



**Abbildung 2.15.:** Zeitlicher Membranpotentialverlauf eines kardialen Aktionspotentials. Eine schnelle Depolarisation ist gefolgt von einer partiellen Repolarisation und einer langen Plateauphase bevor das Membranpotential wieder auf seinen Ausgangswert abfällt, nach [94].



---

## 2.4 Neuronale Schnittstellen

---

Wird eine Elektrode in die Nähe eines Neurons gebracht, können dessen Aktionspotentiale extrazellulär gemessen werden. Ebenso kann durch Anlegen eines Spannungs- oder Strompuls an die Elektrode das Transmembranpotential des Neurons ausreichend verändert werden, um ein Aktionspotential auszulösen. Diese Interaktion von neuronalem Gewebe und elektronischen Schnittstellen sind vielfältig und Gegenstand der aktuellen Forschung. Einige Anwendungen wie Cochlea-Implantate haben sich in den letzten dreißig Jahren in der Medizin etabliert und werden stetig weiterentwickelt. Für Forschungszwecke werden Elektroden *in vitro* oder *in vivo* eingesetzt und sind meist spezialisiert, entweder auf die Messung von Zellsignalen oder die Stimulation. Eine Standardtechnologie für die Anwendung *in vitro* sind Mikroelektroden-Arrays (MEA), die hier genauer beschrieben werden sollen.

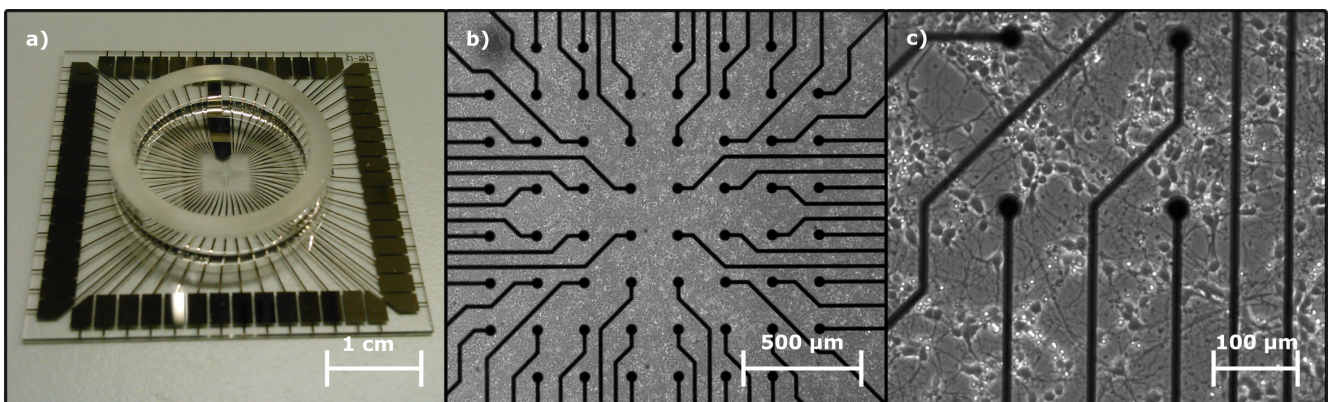
Mit solchen Elektroden können auch andere elektrisch aktive Zellen, wie zum Beispiel Kardiomyozyten, untersucht werden. Die verschiedenen Anwendungen haben dabei gemeinsam, dass die Elektroden bestimmten Kriterien erfüllen müssen. Daher ist der Materialaspekt ein wichtiger Gegenstand der Forschung. Die relevanten Eigenschaften und Anforderungen, sowie die aktuellen Entwicklungen werden daher im letzten Abschnitt zusammengefasst.

---

### 2.4.1 Mikroelektroden-Arrays

---

Ein typischer Mikroelektroden Array-Chip besteht aus einer Zellkulturkammer mit Mikroelektroden, die über Leiterbahnen mit den Kontaktpads verbunden sind. Das Substrat besteht typischerweise aus Glas, da so die Zellen mittels Durchlichtmikroskopie beobachtet werden können. Um das Nährmedium für die Zellkultur aufzunehmen, ist eine Kavität um das Elektroden Array angebracht. Die Leiterbahnen sind mit einer Isolationsschicht gegen den Elektrolyten isoliert. Über die Kontaktpads werden die Mikroelektroden an den Vorverstärker angeschlossen. Die substratintegrierten Elektroden sind in festen Abständen angeordnet. Ihr Abstand und die Größe der Elektroden bestimmen die Dichte des Arrays. Dabei muss ein Optimum zwischen der Größe und dem Abstand zwischen den Elektroden gefunden werden. Je mehr Elektroden pro Flächeneinheit vorhanden sind, desto mehr Zellen können gemessen werden. Im Fall von nur wenigen aktiven Zellen auf dem Chip steigt damit die Chance auf erfolgreiche Ableitung der Signale. Eine zu dichte Anordnung der Elektroden hat jedoch das Problem, dass Störsignale von anderen Elektroden gemessen werden, es zu Übersprechen kommt und das Rauschsignal erhöht ist. Zusätzlich zu den Mikroelektroden ist eine größere Elektrode als Referenz eingebaut. In Abbildung 2.16 ist ein MEA-Chip in verschiedenen Vergrößerungen gezeigt.



**Abbildung 2.16.:** MEA-Chip in verschiedenen Vergrößerungen. a) Gesamtansicht des Chip mit Kontaktpads und Kulturschale, b) komplettes Mikroelektroden Array dicht bewachsen mit neuronalen Zellen, c) einzelne Elektroden mit neuronalen Zellen.

Ein großer Vorteil der Mikroelektroden-Arrays ist, dass die Technik nicht invasiv ist. Neuronale Zellen können von Monaten bis zu über einem Jahr [95] auf den Chips in Nährmedium kultiviert werden. So kann über einen langen Zeitraum hinweg die Entwicklung und das Netzwerkverhalten studiert werden. Dabei ist sowohl die Messung einzelner Zellen als auch des ganzen Netzwerks möglich. Gleichzeitig kann mit den Elektroden auch stimuliert werden, obwohl bessere Ergebnisse erzielt werden, wenn die Elektroden entweder für die Stimulation oder das Messen von Zellsignalen optimiert sind [96].

Außer dissoziierten Zellkulturen können auch Gewebeschnitte und neuronalen 3D Modelle (Neurosphäre) mit MEAs gemessen werden [97, 98]. Anwendungen von MEAs sind unter anderem:

- Netzwerk-Analyse: Vernetzung der Neurone untereinander, Aktivitätsmuster, Entwicklung und Kommunikation [99].
- Closed-Loop Stimulation: künstliche Synapsen zur Untersuchung von neuronaler Plastizität und Lernmechanismen [100, 101].
- Medikamententests: Reaktion der Zellen auf bestimmte Substanzen [102, 103].
- Bestrahlung: Einfluss von ionisierender und nichtionisierender Strahlung auf die Entwicklung und die Funktion von Zellen [104, 105].

---

## Rauschen

---

Mögliche Rauschquellen an Mikroelektroden und neuronalen Schnittstellen sind biologisches Rauschen, Rauschen verursacht von der Elektrode-Elektrolyt Schnittstelle und das Rauschen der elektronischen Komponenten. Bei Rauschen handelt es sich um einen stochastischen Prozess, hervorgerufen durch mikroskopische Vorgänge (Fluktuatoren) im Material. Der momentane Wert eines Fluktuators kann nicht vorhergesagt werden, aber es lassen sich Aussagen über das statistische Verhalten machen. Für die Analyse im Frequenzbereich wird die Autokorrelation des Spannungssignal  $V_r(t)$  fouriertransformiert:

$$\tilde{V}_r(\omega) = \frac{1}{\sqrt{T}} \int_{-\infty}^{\infty} V_r(t) e^{-i\omega t} dt \quad (2.14)$$

Die wichtigste Größe ist die spektrale Leistungsdichte  $S_V$  (PSD, Power Spectral Density). Sie gibt die Leistung eines Signals in einem infinitesimalen Frequenzband bezogen auf die Frequenz an und hat die Einheit  $V^2/\text{Hz}$ .

$$S_V(\omega) = \langle |\tilde{V}_r(\omega)|^2 \rangle \quad (2.15)$$

Ein großer Teil des elektronischen Rauschen kommt von der Einkopplung der Versorgungsspannung. Die resultierende Frequenzspitze bei 50 Hz lässt sich leicht filtern. Weitere Rauschquellen sind die elektronischen Bauteile, wie Widerstände, Kondensatoren und Transistoren. Hier sind an Ladungsträger gekoppelte Fluktuatoren im Festkörpern die Ursache. Mikroskopisch können das zum Beispiel die Bewegung von Defekten, Ladungsträger an einer Potentialbarriere, elektronische Fallen oder Bewegung magnetischer Domänen ein.

Biologische Rauschquellen sind vor allem andere Neurone, die nicht direkt mit der betrachteten Elektrode gekoppelt sind, aber trotzdem als Hintergrundsignal von ihr aufgenommen werden. Zudem können Ladungsfluktuationen an den Ionenkanälen der Membran zum Rauschsignal beitragen [106], ebenso Ladungsfluktuationen aufgrund elektrochemischer Prozesse an der Elektrode-Elektrolyt-Schnittstelle [107]. Unabhängig vom mikroskopischen Ursprung können verschiedene Rauscharten anhand der Frequenzabhängigkeit ihrer spektralen Leistungsdichte klassifiziert werden [108].



---

## Thermisches Rauschen

Thermisches Rauschen tritt in jedem Leiter bei endlichen Temperaturen auf. Es resultiert aus den zufälligen, thermisch aktivierten Bewegungen der Ladungsträger im thermischen Gleichgewicht [109, 110]. Daher stellt es den minimalen Rauschuntergrund dar und ist in jeder Messung vorhanden. Die mittlere quadratische Spannung beträgt:

$$\langle V^2 \rangle = 4k_B T \operatorname{Re}[Z(f)] \Delta f \quad (2.16)$$

Dabei ist  $k_B T$  die thermische Energie,  $Z(f)$  die Impedanz und  $\Delta f$  das gemessene Frequenzintervall. Mit der Fourier-Transformation erhält man daraus eine konstante spektrale Leistungsdichte

$$S_V = 4k_B T \operatorname{Re}[Z(f)] \quad (2.17)$$

Thermisches Rauschen ist also frequenzunabhängig und wird deswegen auch als weißes Rauschen bezeichnet und seine Größe hängt nur von der Temperatur und dem Widerstand ab. Da die Temperatur im Allgemeinen nicht beeinflusst werden kann, ist ein möglichst geringer Widerstand der Elektroden anzustreben. Über den Zusammenhang  $R = \rho \cdot \frac{l}{A}$  wird ersichtlich, dass eine große Oberfläche  $A$  für einen kleinen Widerstand und damit für ein geringes Rauschen sorgt.

## 1/f-Rauschen

Das 1/f-Rauschen zeichnet sich durch 1/f<sup>α</sup>-Verhalten von  $S_V$  aus, wobei im Allgemeinen der Frequenzexponent  $\alpha$  zwischen 0,8 und 1,4 liegt. Das 1/f-Rauschen ist bei niedrigen Frequenzen größer als das thermische Rauschen, bei hohen Frequenzen ist es dagegen kleiner. Es tritt häufig in Festkörpern und vor allem in Halbleitern auf und ist deswegen das typische Rauschverhalten von Transistoren und Verstärkerschaltungen. Verschiedene Effekte werden als Quellen für 1/f-Rauschen beschrieben: Beispielsweise Elektronenfallen und andere Zwei-Level-Systeme, Defektwanderungen und magnetische Fluktuationen.

## Signal-Rausch-Verhältnis

Das Signal-Rausch-Verhältnis (SNR, Signal-to-Noise-Ratio) gibt an, wie gut das erwünschte Signal sich von dem Untergrundrauschen abhebt. Ein großes SNR ist dabei von Vorteil, da Signale besser vom Untergrund unterschieden werden können und weniger stark verzerrt werden, was die Messung insgesamt empfindlicher macht. Es ist definiert als das Verhältnis der mittleren Signalleistung zur mittleren Rauschleistung, für den Fall, dass ein stationäres Signal vorliegt. Da dies bei Aktionspotentialen nicht gegeben ist, wird als alternative Berechnungsmethode das quadrierte Verhältnis der mittleren Spikeamplitude und der Standardabweichung des Rauschsignals gewählt [111]:

$$\text{SNR} = \left( \frac{A_{\text{peak}}}{\sigma_{\text{noise}}} \right)^2 \quad (2.18)$$

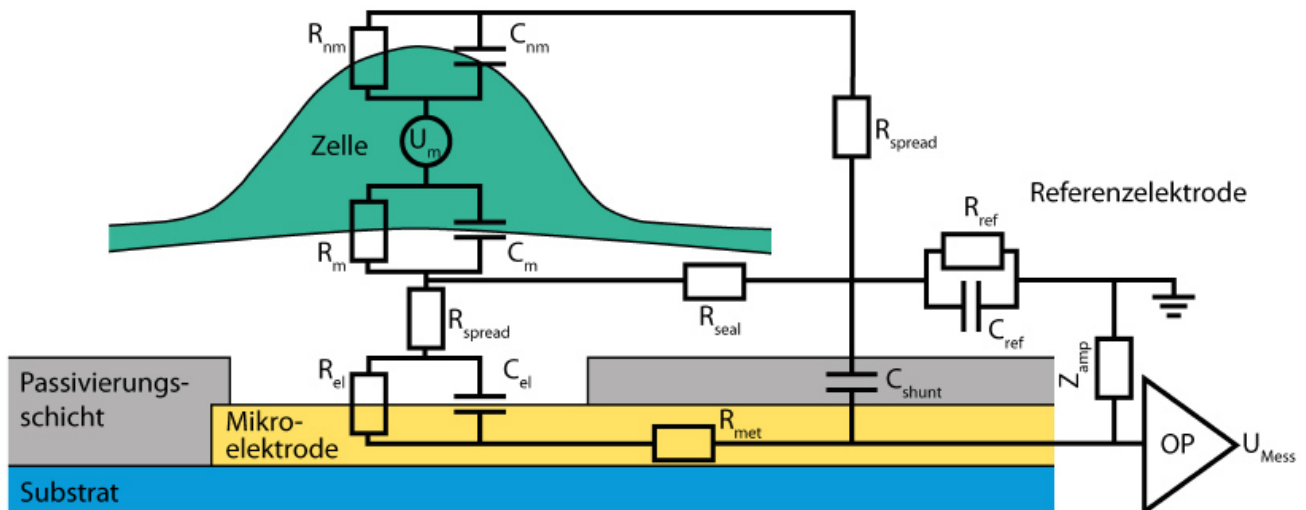
---

## Ersatzschaltbild einer neuronalen Schnittstelle

---

Für die Zell-Elektroden-Schnittstelle kann der Zusammenhang der einzelnen Komponenten mit Kondensatoren und Widerständen modelliert werden, wie in Abbildung 2.17 dargestellt ist. Der Übergang Elektrode-Elektrolyt wird repräsentiert durch einen Kondensator  $C_{\text{el}}$  und einen Widerstand  $R_{\text{el}}$ , die parallel geschaltet sind.  $C_{\text{el}}$  entspricht dabei der Doppelschichtkapazität und  $R_{\text{el}}$  kommt nur zum Tragen, falls faradaysche Prozesse an der Elektrode auftreten. Auch die Referenzelektrode wird so mit  $R_{\text{ref}}$  und  $C_{\text{ref}}$  beschrieben, wobei auch hier  $R_{\text{ref}}$  keine Rolle spielen sollte.  $R_{\text{met}}$  beschreibt den Widerstand der Leiterbahnen und  $C_{\text{shunt}}$  die Kapazität, die durch die Isolationsschicht verursacht wird. An der Schnittstelle ist die Zellmembran über  $R_m$  und  $C_m$  an die Elektrode gekoppelt, während  $R_{\text{nm}}$  und  $C_{\text{nm}}$  den Membranwiderstand und die Kapazität an der nicht gekoppelten Stelle beschreiben. Die Kapazitäten modellieren

dabei die Zellmembran, während die Widerstände die Summe der Ionenströme durch die Zellmembran darstellen.  $U_m$  beschreibt das durch die Zelle generierte Spannungssignal. Am wichtigsten für eine gute Kopplung ist  $R_{\text{seal}}$ , der Widerstand zwischen Zelle und Elektrode. Je größer er ist, desto weniger Leckströme fließen über das Medium ab und können stattdessen an der Elektrode detektiert werden [112, 113]. Dagegen modelliert  $R_{\text{spread}}$  den Widerstand des Elektrolyten und damit den Teil des Signals, der nicht von der Elektrode detektiert wird.  $Z_{\text{amp}}$  und  $U_{\text{Mess}}$  sind dem externen Vorverstärker zuzuordnen.



**Abbildung 2.17.:** Ersatzschaltbild des Systems Elektrode-Zelle-Elektrolyt-Messaufbau. Die Zelle ist über den Elektrolyt mit der Referenzelektrode verbunden und über die Mikroelektrode mit dem Operationsverstärker und dem restlichen Messaufbau. Für die Qualität der gemessenen Signale ist vor allem ein großer  $R_{\text{seal}}$  von entscheidender Bedeutung, da so Leckströme unterdrückt werden können, aus [113].

## 2.4.2 Medizinische Anwendungen

Neuronale Elektroden werden *in vivo* auch für medizinische Anwendungen eingesetzt. Aktuelle Beispiele sind Cochlea-Implantate (CI), Retina-Implantate, Tiefe Hirnstimulation (THS) und Gehirn-Computer-Schnittstellen. Sie zählen zu den Neuroprothesen, die darauf abzielen, den Verlust von Sinnesorganen auszugleichen oder die motorische Funktion der Extremitäten nach einer Querschnittslähmung wieder herzustellen [114, 115, 116]. Die Tiefe Hirnstimulation kommt auch bei diversen neurologischen Erkrankungen zum Einsatz [117]. Bei den sensorischen Neuroprothesen und der THS ist die Stimulation der Nervenzellen der entscheidende Mechanismus. Nur die Gehirn-Computer-Schnittstelle ist in erster Linie auf das Auslesen von neuronalen Aktivitätsmustern angewiesen. Perspektivisch ist aber auch hier die Stimulation relevant, um durch sensorische Rückmeldung der Extremitäten ein Closed-Loop System zu ermöglichen, was dem natürlichen Zustand möglichst nahe kommt.

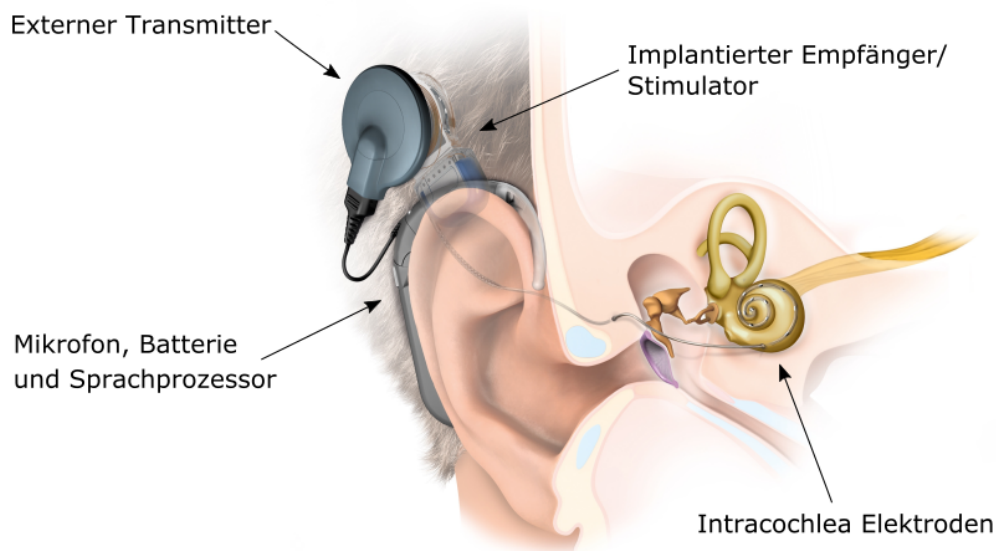
### Cochlea-Implantate

Cochlea-Implantate, die den Hörnerv stimulieren, sind im klinischen Einsatz weit verbreitet und eine Standardtherapie bei Patienten mit Hörverlust und taub geborenen Kindern. Pro Jahr werden ca. 2000 Patienten in Deutschland mit einem CI versorgt. Sie werden seit rund 40 Jahren zur Behandlung von Gehörlosigkeit und Gehörverlust eingesetzt und sind damit ein gutes Beispiel für die erfolgreiche Anwendung einer neuronalen Schnittstelle [114].

Gelangt Schall in das gesunde menschliche Ohr, werden die Schwingungen über das Trommelfell und

die Gehörknöchelchen in die flüssigkeitsgefüllte Cochlea geleitet. Die Cochlea ist ein schneckenförmiges Gebilde im Innenohr mit zweieinhalb Windungen, das durch Membranen in drei Längskammern unterteilt wird. In der mittleren Kammer sitzen 12000 Haarzellen, die Druckschwankungen in elektrische Impulse umwandeln, welche über den Hörnerv dann weiter an das Gehirn geleitet werden. Hohe Frequenzen werden dabei im unteren Teil der Cochlea verarbeitet, während tiefe Frequenzen die Haarzellen am oberen Ende stimulieren. Sind diese Haarzellen geschädigt oder nicht (mehr) vorhanden, kann ein Cochlea-Implantat ihre Funktion übernehmen. Es gibt elektrische Pulse an die noch vorhandenen Neurone ab und simuliert damit einen Höreindruck. Ist auch der Hörnerv geschädigt, kann er durch ein Hirnstammimplantat überbrückt werden und die Stimulation geschieht direkt im Gehirn.

Ein Cochlea-Implantat besteht aus dem implantierten Signalgenerator mit Elektroden, einer Spule zur Übertragung von Daten durch die Haut und einem Gerät, das den Schall aufnimmt, verarbeitet und in Stimulationspulse übersetzt. In Abbildung 2.18 sind die Komponenten eines CIs und ihre Lage im implantierten Zustand gezeigt. Aktuelle CI arbeiten dabei mit 2 – 22 Elektrodenkanälen für die Stimulation. Studien haben jedoch gezeigt, dass die Qualität des Höreindrucks nicht mit der Anzahl der Elektroden steigt. Durch Überlagerung der Signale und unspezifische Stimulation liegt die effektive Anzahl der Elektroden bei acht. Meist wird auch nur der untere Teil der Cochlea stimuliert, weswegen vor allem tiefe Frequenzen ausfallen. Die meisten Patienten können mit Implantat Gesprächen in ruhiger Umgebung ohne Hilfsmittel folgen und telefonieren. Komplexere Situationen, wie viele Hintergrundgeräusche oder Musikhören ist dagegen schwierig, da die komplexe Filter- und Verstärkungsfunktionen des gesunden Gehörs noch nicht ausreichend gut ersetzt werden können. Zudem tritt eine hohe Schwankungsbreite in der Leistungsfähigkeit der CI auf. Einflussfaktoren sind dabei unter anderem die Länge und der Grund der Gehörlosigkeit, der Gesundheitszustand des Hörnervs, die Lage des Implantats in der Cochlea, Immunreaktionen sowie die individuelle Lernfähigkeit des Patienten [13].



**Abbildung 2.18.:** Aufbau und Platzierung eines Cochleaimplantats im menschlichen Ohr. Mikrofon, Batterie und Sprachprozessor sind hinter dem Ohr angebracht und die Signale werden über einen externen Transmitter an die implantierte Stimulationseinheit transferiert. Diese steuert die in der Cochlea befindlichen Elektroden an, nach [118].

---

## Retina-Implantate

Retina-Implantate, die das Sehvermögen von stark sehbehinderten oder blinden Menschen verbessern können, befinden sich noch im experimentellen Stadium. Aktuell werden zwei verschiedene Systeme erprobt, das subretinale Implantat und das epiretinale Implantat. Im ersten Fall liegt das Implantat mit Photodiodenarray zwischen Netzhaut und Aderhaut und ersetzt damit die Fotorezeptoren. Die Lichteindrücke werden direkt in elektrische Signale umgesetzt und an die Nervenzellen der Netzhaut weitergegeben. Vorteil dieser Methode ist, dass das Auge intakt bleibt und die Netzhaut weiterhin die Signalverarbeitung übernimmt. Nachteile sind, dass die Operation kompliziert ist und die Netzhaut noch funktionsfähig sein muss [119, 120]. Das Epiretinale Implantat ist komplexer aufgebaut. Die optische Information wird mit einer Kamera aufgenommen, die in eine Brille integriert ist, extern verarbeitet und in elektrische Pulse umgewandelt. Diese werden dann auf ein Elektroden Array im Auge übertragen und stimulieren dort die oberste Zellschicht (Ganglien) der Netzhaut. Da die Fotorezeptoren unter der Netzhaut liegen, werden die Ganglien von der „falschen“ Seite aus stimuliert und der restliche Teil der Netzhaut kann nicht zur Signalverarbeitung beitragen. Der Vorteil dieser Methode ist eine einfachere Operation. Der Nachteil ist, dass die Informationen der Kamera extern verarbeitet und übertragen werden müssen [121]. Patienten konnten mit beiden Neuroprothesen bereits Formen erkennen, große Buchstaben lesen und hell/dunkel unterscheiden.

## Tiefe Hirnstimulation

Die Tiefe Hirnstimulation findet Anwendung bei neurologischen und psychiatrischen Erkrankungen, wenn die medikamentöse Therapie keine Wirkung erzielt oder die Nebenwirkungen zu stark sind. Sie ist eine etablierte Therapie bei Parkinson, lindert die motorischen Probleme wie den Tremor und erlaubt eine Reduktion der Medikamentengabe und den damit verbundenen Nebenwirkungen [122, 123]. Die THS ist außerdem zugelassen zur Behandlung von Epilepsie, Dystonie und Zwangserkrankungen. Weitere Anwendungen wie zum Beispiel die Therapie von Demenzerkrankungen, Gilles-de-la-Tourette Syndrom und Depressionen werden untersucht. Je nach Einsatzgebiet werden unterschiedliche Regionen im Gehirn stimuliert. Für Parkinson sind es zum Beispiel die Basalganglien [117]. Zur Stimulation werden relativ große Elektroden implantiert (vier Ringelektroden, Fläche jeweils  $6 \text{ mm}^2$  [123, 124]). Damit ist die Stimulation relativ ungenau, da nur Nervenpopulationen in bestimmten Gehirnregionen beeinflusst werden können. Sie werden durch die Stimulation entweder aktiviert oder deaktiviert. Nebenwirkungen der Stimulation können Depression und Gedächtnisstörungen sein, vor allem wenn gesunde Bereiche des Gehirns mit stimuliert werden. Interessant ist, dass die Behandlung von Krankheiten mit dieser Methode zwar funktioniert, aber der genaue Mechanismus noch unbekannt und Gegenstand der Forschung ist [117]. Neuere Entwicklungen arbeiten mit kleineren Elektroden, um gezielter zu stimulieren und weniger Nebenwirkungen zu generieren.

## Gehirn-Computer-Schnittstelle

Die Anwendung der Gehirn-Computer-Schnittstelle findet vor allem im Rahmen von Forschungsprojekten statt. Experimente versuchen die Bewegungsfähigkeit, zum Beispiel nach einer Querschnittslähmung, durch Neuroimplantate wieder herzustellen. Dafür muss die geschädigte Nervenbahn überbrückt, die Information zur Bewegung aus dem Gehirn ausgelesen und an die peripheren Nerven übermittelt werden. Das Auslesen ist grundsätzlich auch nichtinvasiv mittels Elektroenzephalographie möglich, aber ungenau. Implantierte Elektroden können entweder auf der Hirnrinde (Elektrokortikogramm) oder direkt im Gehirn platziert werden. Roboter-Arme können so schon bewegt und Computer bedient werden [125]. Nachteil ist die fehlende Rückkopplung, dafür wäre ein Closed-Loop Aufbau nötig, der sowohl stimuliert als auch Nervenimpulse ausliest.

---

### 2.4.3 Elektrodeneigenschaften

---

Je nach Anwendungsgebiet unterscheiden sich die eingesetzten Elektroden in ihren Materialien, Formen und Größen. Allerdings sind auch Gemeinsamkeiten in den Anforderungen vorhanden: eine neuronale Elektrode muss aus einem stabilen, leitfähigen und biokompatiblen Material bestehen, ein geringes Rauschen der elektronischen Komponenten sowie eine gute Ortsauflösung aufweisen.

---

#### Biologische Anforderungen

---

##### **Biostabilität**

Biologische Umgebungen stellen hohe Ansprüche an ein Material. Sie sind warm, feucht und es liegen Proteine und gelöste Salze vor. Die mechanische und chemische Stabilität auch über längere Zeiträume in biologischer Umgebung ist daher eine wichtige Eigenschaft für neuronale Elektroden. Insbesondere für medizinische Anwendungen ist eine möglichst lange Lebenszeit der Implantate unumgänglich, um unnötige Operationen und Funktionsprobleme zu vermeiden. Die Langzeitstabilität wird zum einen begrenzt durch Materialermüdung, zum Beispiel durch Korrosion, und zum anderen durch Abstoßungsreaktionen des Körpers. Bei *in vitro* Anwendungen ist eine möglichst hohe Stabilität insofern interessant, da sie einen längeren Einsatz der Elektroden für mehrere Experimente erlaubt. In der Laboranwendung sind Reinigungsprotokolle (Alkohol, UV-Licht, Reinigungsenzyme, Autoklavieren) zusätzliche Faktoren, die sich negativ auf die Stabilität der Elektroden auswirken können.

##### **Biokompatibilität**

Ein biokompatibles Material zeichnet sich dadurch aus, dass es keine toxische Wirkung auf biologisches Gewebe hat, es sich nicht zersetzt und keine Zellveränderungen beziehungsweise Gewebereaktionen auftreten [126]. Je biokompatibler ein Material ist, desto weniger Entzündungs- und Abkapselungsreaktionen des Organismus sind zu erwarten. Eine hohe Biokompatibilität trägt damit sowohl zur Langzeitstabilität als auch zur Zuverlässigkeit einer Elektrode bei. Zusätzlich kann ein Material als biotolerant, bioinert oder bioaktiv eingestuft werden [127]. Biotolerante Materialien eignen sich nicht für Langzeitanwendungen, haben aber im kurzen Kontakt keine schädlichen Einflüsse. Bioinerte Werkstoffe dagegen zeigen auch über längere Zeiträume keine negativen Einflüsse wie das Freisetzen von toxischen Substanzen und sie gehen keine Wechselwirkungen mit dem Gewebe ein. Liegt ein aktiver, positiver Einfluss auf das Gewebe vor, ist das Material bioaktiv. Dies kann zum Beispiel die Förderung der Zelladhäsion oder die Differenzierung von Stammzellen sein.

---

#### Mechanische und Geometrische Anforderungen

---

##### **Geometrie**

Die Größe der Elektroden bedingt die erreichbare Ortsauflösung. Je kleiner die Elektrode, desto genauer können die Signale einer Zelle gezielt abgeleitet oder die Zelle stimuliert werden. Dies ist vor allem für Neuroimplantate wichtig, da deren Funktion von der präzisen Stimulation an der richtigen Stelle abhängt. Aber auch die Untersuchung einzelner Zellen kann nur mithilfe einer guten Ortsauflösung erreicht werden. Gleichzeitig wird die Ortsauflösung von dem Abstand der Elektroden untereinander begrenzt. Er muss so gewählt sein, dass die Auflösung hoch genug ist, aber gleichzeitig kein Übersprechen zwischen benachbarten Elektroden stattfindet, da dies zu einem verstärkten biologischen Hintergrundrauschen und Störsignalen führt.

##### **Mechanische Verträglichkeit**

Vor allem für *in vivo* und für medizinische Anwendungen ist es wichtig, dass die Elektroden in ihren mechanischen Eigenschaften dem neuronalen Gewebe ähneln, da es sonst zu Entzündungsreaktionen



---

und einer herabgesetzten Biokompatibilität kommen kann. Allerdings muss die Elektrode gleichzeitig steif genug für die Implantation sein. Für *in vitro* Elektroden ist Flexibilität nicht relevant. Hier werden hauptsächlich starre Substrate wie Glas oder Silizium eingesetzt.

---

## Elektrische Eigenschaften

---

Insbesondere in den elektrischen Eigenschaften unterscheiden sich die Anforderungen an Mess- und Stimulationselektroden, weswegen beide hier getrennt betrachtet werden.

### Messelektroden

Die wichtigste Eigenschaft einer Messelektrode ist ihre niedrige und stabile Impedanz. Sie wird typischerweise bei 1 kHz angegeben [82]. Eine kleine Impedanz bewirkt zum einen ein niedriges Rauschen und zum anderen eine gute Signalübertragung von der Zelle zur Elektrode. Um Signale überhaupt messen zu können, muss die Signalamplitude größer als das Rauschen sein, daher wird ein SNR von 5:1 angestrebt [82]. Die Impedanz der Elektrode hängt von vielen Faktoren ab. Bei Anwendungen *in vivo* können vor allem Immunreaktionen und die Bildung von Bindegewebe die elektrischen Eigenschaften der Schnittstelle negativ beeinflussen. Sie wirken dabei als Isolatormaterial zwischen Elektrode und elektrogenen Zellen und verschlechtern damit die Impedanz.

Das intrinsische thermische Rauschen eines elektrischen Leiters hängt nur von der Temperatur und dessen elektrischer Impedanz ab. Die Leiterbahnen, Verstärker und natürlich die Elektrode selbst tragen zu diesem Rauschen bei. Der Zusammenhang zwischen Impedanz und Rauschamplitude ist durch eine Wurzelfunktion gegeben, woraus sich ergibt, dass bei gleichbleibender Temperatur ein kleiner Widerstand ein geringeres thermisches Rauschen zur Folge hat. Entsprechend wirkt sich eine kleine Impedanz der Elektrode positiv auf das SNR aus. Eine häufig angewendete Strategie, um die Impedanz zu verkleinern, ist die Verwendung einer mikrostrukturierten Oberfläche. Sie ergibt bei gleicher geometrischer Fläche eine vergrößerte Oberfläche und damit eine niedrigere Impedanz. Dies wird zum Beispiel durch Einsatz von porösen Materialien wie Platin-Black, Titannitrid, CNTs [128], Goldnanodrähten [76] und Goldnanoflakes [129] auf den Elektroden erreicht. Zusätzlich kommt es für die erfolgreiche Ableitung auch auf einen guten Kontakt zwischen Zelle und Elektrode an, was einem großen  $R_{\text{seal}}$  entspricht (vergleiche Abschnitt 2.4.1). Mikrostrukturierte und raue Oberflächen bieten hier ebenfalls einen Vorteil, da Zellen bevorzugt auf ihnen adhären [130].

### Stimulationselektroden

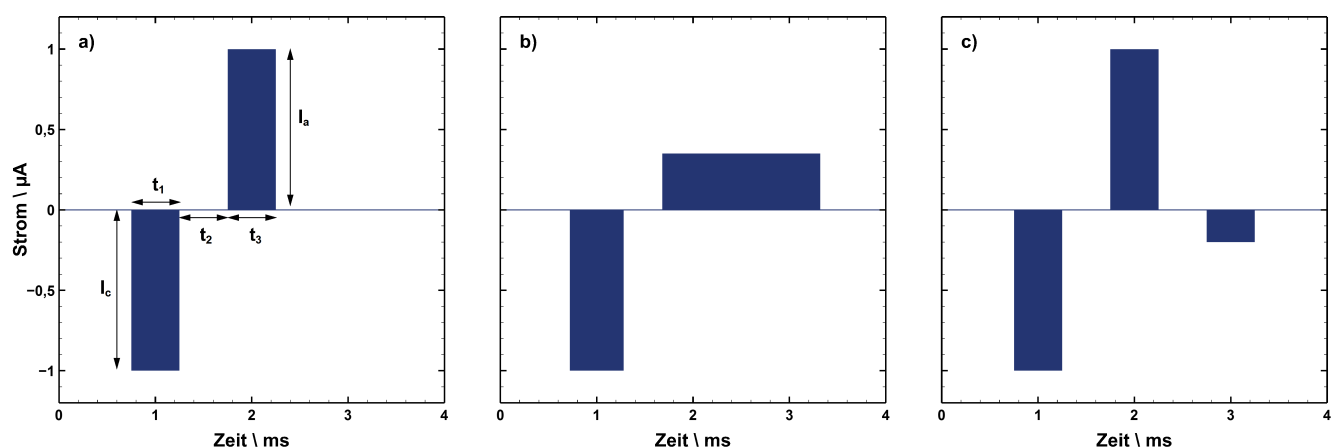
Die bisher diskutierten Eigenschaften sind sowohl für Mess- als auch für Stimulationselektroden relevant. Einige zusätzliche Faktoren müssen jedoch für die erfolgreiche Stimulation beachtet werden. Stimulationselektroden arbeiten aktiv, das heißt, dass Strom- beziehungsweise Spannungspulse benutzt werden, um eine Veränderung des Transmembranpotential an der Zelle hervorzurufen. Stromkontrollierte Pulse sind einfach zu kontrollieren, aber die wirklich transferierte Ladung ist abhängig von der Elektrodenimpedanz. Spannungskontrollierte Stimulation wird daher oft bevorzugt, da sie einfacher zu implementieren und weniger fehleranfällig ist [131].

Ein kathodischer Strompuls sorgt für einen negativen Ladungsschwerpunkt an der Elektrode und damit für eine Ansammlung von positiver Ionen in der Zelle. Dies depolarisiert die Membran an der Elektrode. Wird dabei der Schwellwert von  $-55$  mV überschritten, kommt es zum Auslösen eines Aktionspotentials. Ein anodische Strompuls kann auch eine Depolarisation bewirken. Hierbei sorgt die positive Ladung an der Elektrode für eine Hyperpolarisation der Zellmembran an dieser Stelle. Dies verändert die Ladungsverteilung innerhalb der Zelle, sodass es in der Umgebung der Elektrode zu einer ausreichenden Depolarisation kommen kann und damit ein Aktionspotential ausgelöst wird. Da dies nur indirekt geschieht, ist die Effizienz niedriger als bei kathodischer Stimulation [132].

Die Übertragung der Ladung beruht auf zwei Mechanismen, der kapazitiven und der faradayschen Stimulation. Die kapazitive Stimulation resultiert allein aus dem Auf- und Umladen der elektrochemischen Doppelschicht an der Elektrode-Elektrolyt-Grenzfläche. Hierbei werden keine Elektronen transferiert und wie in Abschnitt 2.1 beschrieben, findet dieser Vorgang immer statt. Der faradaysche Prozess kann bei Erreichen von  $E^0$ , also höheren Strömen und geeigneten Materialien, hinzukommen. Hierbei findet ein Ladungstransfer zwischen Elektrode und Elektrolyt durch elektrochemische Reaktionen statt. Wichtig ist dabei, zwischen reversiblen und irreversiblen Prozesse zu unterscheiden. Erstere zeichnen sich dadurch aus, dass die Reaktionsprodukte in der Nähe der Elektrode verbleiben und wieder zurück reagieren können. Dies ist vor allem bei einer schnellen Reaktionskinetik, zusammen mit langsamen Stofftransport an der Elektrode, gegeben. Im zweiten Fall ist der Stofftransport zu schnell im Vergleich zur Kinetik, die Produkte können in die Lösung diffundieren und stehen nicht mehr für eine Rückreaktion zur Verfügung. Die übertragene Ladung entspricht in beiden Fällen dem Stromintegral über die Zeit.

Um eine Stimulationselektrode zu charakterisieren, wird die Ladungsinjektionskapazität (CIC, charge injection capacity) und die Ladungsspeicherkapazität (CSC, charge storage capacity) angegeben [82]. Beide Größen werden in Bezug auf die Elektrodenfläche bestimmt. Die CSC entspricht der Ladungsdichte des kathodischen Pulses. Sie gibt an, wie viel Ladung in einem Stimulationspuls von der Elektrode gespeichert werden kann. Bei kapazitiver Stimulation entspricht sie der Doppelschichtkapazität  $C_{dl}$ , im faradayschen Fall hängt sie von der Menge der Reaktionsprodukte in der Nähe der Elektrode ab. Die CIC ist definiert als die maximale Ladung, die eine Elektrode transferieren kann und ist durch die Elektrolyse von Wasser begrenzt. Da Wasser in wässriger Lösung nicht transportlimitiert ist, wird nach Erreichen des Elektrolysepotentials jegliche weitere Erhöhung nur noch in die Elektrolyse umgesetzt.

Der faradaysche Stimulationsmechanismus zeichnet sich durch seine höhere transferierbare Ladung aus, was für eine effizientere Stimulation und höhere Werte für CIC und CSC sorgt. Gleichzeitig sind die möglichen schädlichen Einflüsse größer als bei der kapazitiven Stimulation. Schäden können entweder die Elektrode oder das umliegende Gewebe betreffen. Im Fall der Elektrode ist eine Korrosion des Elektrodenmaterials der Hauptgrund für Schäden. Hierbei wird durch irreversible Reaktionen das Elektrodenmaterial angegriffen und auf Dauer zersetzt. Für biologische Schäden können zum einen die Entstehung von toxischen (Neben-) Produkten sorgen, wie zum Beispiel durch die Zersetzung von Wasser ausgelöste Gasbildung und Veränderungen des pH-Werts, oder zum anderen ein zu hoher Ladungseintrag durch den Stimulationsprozess selbst. Die maximale Ladung, die von Gewebe vertragen wird, wird mit  $1 \text{ mC/cm}^2$  für *in vitro* angegeben [71].



**Abbildung 2.19.:** Verschiedene Pulsfolgen bei der Stimulation: a) Biphasisch, symmetrisch, kathodischer Puls zuerst. b) Biphasisch, kathodischer Puls zuerst, gleiche transferierte Ladung aber mit niedrigerem anodischem Strom. c) Triphasisch, kathodischer Puls zuerst, nach [82].



---

Für die Stimulation können verschiedene zeitliche Abfolgen und Formen der Stimulationspulse eingesetzt werden, zum Beispiel um irreversible elektrochemischen Prozesse und unvollständige Rückreaktion an faradayschen Elektroden zu vermeiden. In Abbildung 2.19 sind einige übliche Pulsformen gezeigt. Für die meisten Anwendungen als sinnvoll haben sich symmetrische, biphasische Pulse mit erst einem kathodischen und dann einem anodischen Teil herausgestellt. In beiden Phasen wird dabei die gleiche Ladung transferiert, wodurch in der ersten Phase gebildete Reaktionsprodukte während des zweiten Phase wieder zurück reagieren können. Zudem hilft ein aktives Entladen der Elektrode, Stimulationsartefakte zu vermeiden. Dagegen sind monophasische, stromkontrollierte Pulse nicht sehr effektiv und haben ein hohes Schädigungspotential [131, 132]. Die in Abbildung 2.19 b) gezeigten asymmetrischen biphasischen Pulse sind bei einigen Metallelektroden zu bevorzugen, da sie eine höhere CIC ermöglichen [133]. Triphasische Pulse wie in c) haben den Vorteil, dass mit der dritten Phase für eine instantane und vollständige Entladung der Elektrode gesorgt werden kann, was Totzeiten verkürzt und sich auf CI-Implanate positiv auswirkt [134, 135]. Zusätzlich müssen auch die Materialeigenschaften der Elektrode und die konkrete Anwendung mit berücksichtigt werden. Zum Beispiel sind bei der Stimulation der menschlichen Cochlea anodische Ströme effektiver [136].

---

## 2.5 Graphen als Elektrodenmaterial

---

Aufgrund seiner einzigartigen Eigenschaften wurde Graphen bereits für verschiedenste Anwendungsmöglichkeiten im Bereich neuronaler Elektroden, Biosensoren und Zellinteraktionen erforscht. Deshalb wird hier ein Überblick über die aktuellen Erkenntnisse zur Biokompatibilität, Zellverträglichkeit und Elektrodenanwendungen von Graphen gegeben.

---

### Biokompatibilität

---

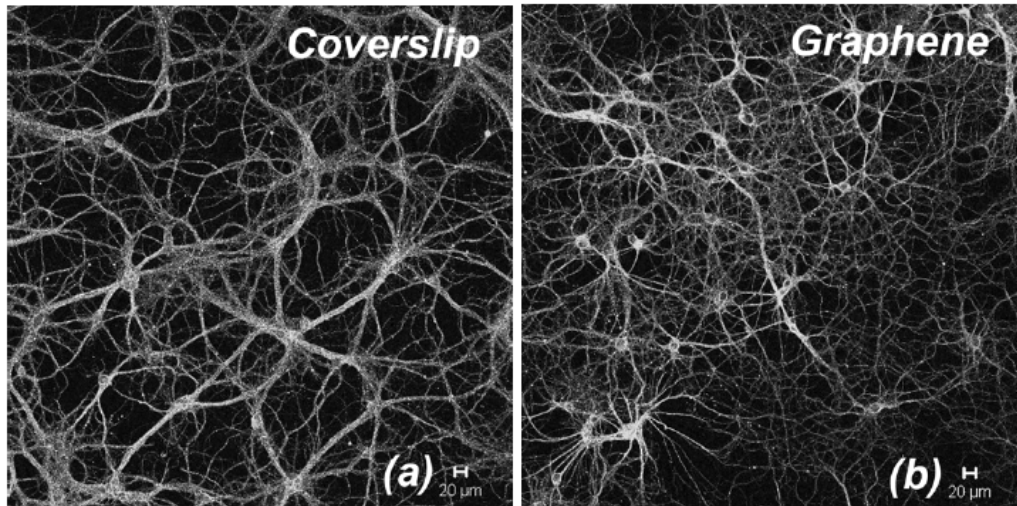
Für den Einsatz des Materials in biologischen Systemen ist die Biokompatibilität das entscheidende Kriterium. Da reines Graphen zu 100 % aus Kohlenstoff besteht, dessen Verbindungen die Grundlage organischer Materie darstellen, sind toxische Reaktionen nicht zu erwarten. Trotzdem ist die Bewertung der Biokompatibilität von Graphen und anderen Kohlenstoffnanomaterialien eine andauernde Diskussion. Das liegt unter anderem darin begründet, dass sich je nach Herstellungs- und Untersuchungsmethode unterschiedliche Aussagen ergeben und die Langzeitauswirkungen von Nanostrukturen nicht abschließend geklärt sind [137]. Zudem können Verunreinigungen des Materials nicht immer ausgeschlossen werden und negative Auswirkungen auf die Biokompatibilität haben. Abgesehen von herstellungsabhängigen Parametern hat sich als Konsens ergeben, dass die Biosicherheit stark abhängig von der Größe, der Struktur und der Oberflächenfunktionalisierung ist [11]. So besteht bei Strukturen im Nanometerbereich die Möglichkeit, dass Graphen von den Zellen aufgenommen wird [137]. Da es nur schwer biologisch abgebaut werden kann, reichert es sich mit der Zeit im Gewebe an und kann zum Beispiel Entzündungsreaktionen auslösen, oxidativen Stress verursachen oder toxisch wirken [11].

Durch Funktionalisierung kann die Reaktivität und die Hydrophobizität der Graphenoberfläche beeinflusst werden [137]. Aufgrund seiner erhöhten Reaktivität hat deswegen Graphenoxid eine geringere Biokompatibilität als Graphen. Es wird von Zellen vor allem durch Endozytose aufgenommen [138] und wirkt toxisch, sowohl auf einzelne Zellen, als auch auf den ganzen Organismus. Hier reichert es sich vor allem in Lunge, Milz und Leber der Versuchstiere an und verursacht in hohen Dosen deren Tod [139]. Allerdings kann durch geeignete Funktionalisierung oder Einkapselung die Toxizität abgeschwächt werden [140].

Verhindert man die Aufnahme von Graphen, in dem es zum Beispiel flächig als Zellsubstrat verwendet wird, sind viele positive Bewertungen bekannt [141, 142, 143]. In Abbildung 2.20 sind kortikale Rattenneurone auf verschiedenen Substraten gezeigt: In a) zur Referenz die Kultur auf Glas und in b) auf Graphen. In beiden Fällen sind die Neurone adhärent, haben Neurite gebildet und sind miteinander vernetzt. Ihr gesunder Zustand zeigt die Biokompatibilität, Ungiftigkeit und Zellverträglichkeit von Graphen als Substrat [144].

Zusätzlich wirkt Graphen bioaktiv und kann eingesetzt werden, um das Zellwachstum und die Differenzierung von Stammzellen zu fördern [145, 146]. Als unbeschichtetes Substrat für Rattenneurone aus dem Hippocampus verwendet, fördert es die neuronale Entwicklung, die Bildung und Plastizität von Synapsen sowie die spontane Aktivität [147]. Ebenso ist Graphen als Gerüst für Zellen vielseitig einsetzbar. Ein poröser Graphen-Schaum kann beispielsweise als Substrat für Neurone verwendet werden und fördert die Ausbildung eines dreidimensionalen Netzwerks [148]. Die Aussaat von Neuronen in selbstfaltenden Graphen-Röhren, mit Poren für die Neurite und die Nährstoffversorgung, ermöglicht eine gezielte Anordnung der Zellen und die kontrollierte Ausbildung von neuronalen Netzwerken [149]. Dies kann als Grundlage dienen, um Gewebe zu imitieren oder die gerichtete Regeneration von Nervenfasern zu erreichen.

Insgesamt ist daher für die Anwendung von Graphen als Elektrodenmaterial die Biokompatibilität positiv zu bewerten, solange gewährleistet werden kann, dass sich keine Teile der Graphenschicht ablösen und von den Zellen aufgenommen werden können.



**Abbildung 2.20.:** Korticale Rattenneurone kultiviert auf a) Glas und b) Graphen. Da nur minimale Unterschiede in der Zellmorphologie und der Vernetzung der Neurone untereinander auftreten, bestätigt dieses Experiment die Biokompatibilität und Zellverträglichkeit von Graphen [144].

---

### Neuronale Graphenelektroden

---

Ein Überblick über die relevanten Arbeiten, die sich mit Graphen als Elektrodenmaterial beschäftigen, wird hier vorgestellt. Graphen wurde in allen Fällen durch CVD hergestellt und auf transparente und zum Teil auch flexible Substrate transferiert. Die wichtigsten Informationen sind in Tabelle 2.1 zusammengefasst. Dazu zählt das Elektrodenmaterial, die Fläche der Elektroden, die Impedanz bei 1 kHz, das SNR und die biologische Testumgebung. Alle Publikationen berichten von niedrigem Rauschen und hohem SNR bei der Kultur diverser Zelltypen, Geweben und auch *in vivo*.

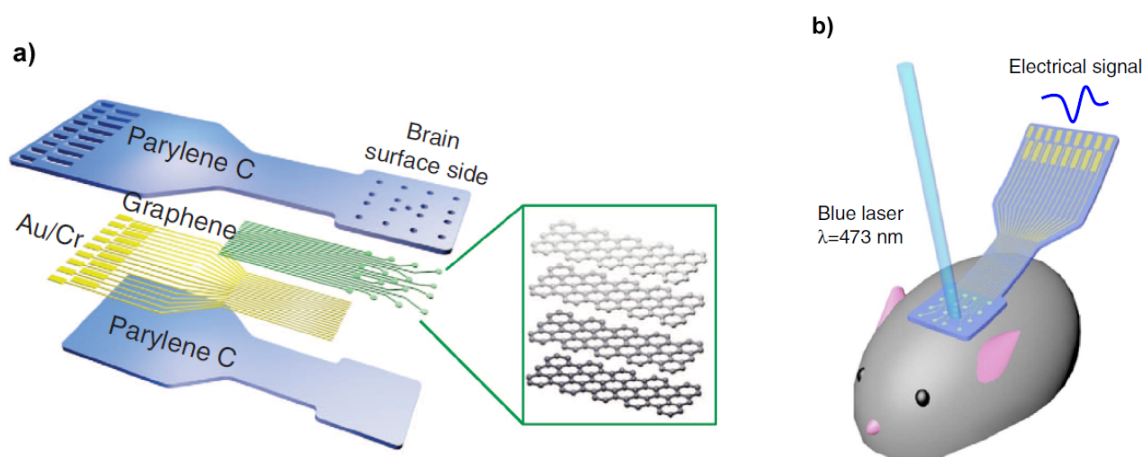
**Tabelle 2.1.:** Überblick über die wichtigsten experimentellen Parameter von neuronalen Graphenelektroden in der Literatur.

Referenz	Elektrodenmaterial	Elektrodenfläche / $\mu\text{m}^2$	Impedanz @1 kHz / $\text{k}\Omega$	SNR	Biologie
[150]	4 Lagen CVD Graphen	31400	243	–	<i>in vivo</i> (Mäuse)
[144, 151]	plasmafunktionalisiertes Graphen	13500	0.7	20	Krebsaxone
[152]	4 Lagen CVD Graphen	7854	286	–	<i>in vivo</i> (Mäuse)
[153]	CVD Graphen	7000	170	10	Rattenneurone
[154]	dotiertes Graphen	2500	541	31	<i>in vivo</i> , Schnitte
[154]	undotiertes Graphen	2500	3000	–	–
[155]	CVD Graphen	314	100	20	HL-1 Zellen
[156]	CVD Graphen	314	4000	48	Neurone

---

In [150] werden transparente Graphen-basierte Elektroden-Arrays für optogenetische Anwendungen beschrieben. Auf ein Parylene C-Substrat wurden nacheinander vier Graphenlagen transferiert und isoliert, um ein Elektroden-Array herzustellen. Die transparenten und flexiblen Elektroden haben eine Größe von  $31400 \mu\text{m}^2$  und zeigen eine Signalqualität, die vergleichbar mit Platinelektroden ist. Gleichzeitig zur elektrischen Ableitung wurden Kalzium-Imaging-Untersuchungen an Versuchstieren durchgeführt. In Abbildung 2.21 ist das verwendete Elektroden-Array und seine Anwendung gezeigt.

In einer weiteren, darauf aufbauenden Arbeit [152], wurde dasselbe Elektroden-Array mit Parylene C-Substrat und vier Lagen Graphen verwendet. Die Elektrodenfläche ist mit  $7854 \mu\text{m}^2$  allerdings kleiner und entspricht einer kreisförmigen Elektrode mit  $100 \mu\text{m}$  Durchmesser. Die Charakterisierung der Elektroden schließt hier auch Stimulationseigenschaften mit ein. Hier wurde eine Ladungsspeicherkapazität von  $0,088 \text{ mC/cm}^2$  gemessen und eine Ladungsinjektionskapazität von  $0,116 - 0,174 \text{ mC/cm}^2$  durch *in vivo*-Stimulationsexperimente bestimmt. Ebenso wurden auch optische Stimulationsexperimente und Kalzium-Imaging an genmanipulierten Mäusen durchgeführt.



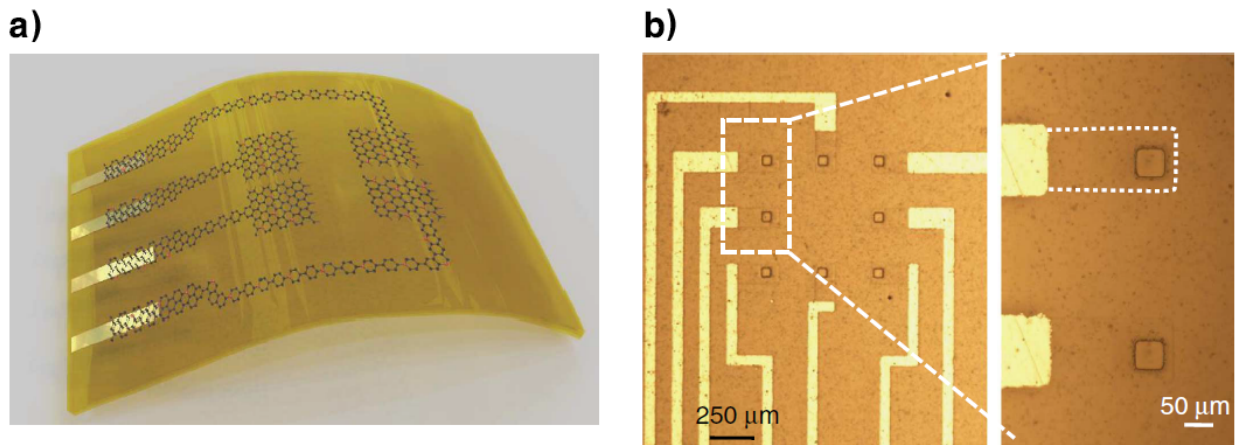
**Abbildung 2.21.:** a) Aufbau des Elektroden-Arrays mit vierlagigem Graphen. b) Anwendung des Arrays zur gleichzeitigen optischen Stimulation und elektrischen Ableitung des Kortex von Mäusen [150].

In den Arbeiten [144, 151] wurden flexible, Graphen-basierte Mikrosonden entwickelt, die dazu dienen, Krebsaxone und Herzen von Zebrafischen elektrisch zu untersuchen. Das Graphen wurde auf ein SU-8-Substrat transferiert und mit Polydimethylsiloxan (PDMS) isoliert und dient gleichzeitig als Elektrodenmaterial und als Leiter. An der Spitze der Sonde liegt die Graphenschicht frei, was eine relativ große und wenig definierte Elektrodenfläche ergibt. Zusammen mit der Funktionalisierung von Graphen durch Wasserdampfplasma ergibt sich ein niedriger Impedanzwert.

Die Arbeit [153] befasste sich mit der Herstellung und Charakterisierung transparenter Graphenelektroden auf Glassubstrat um die Aktivität von kortikalen Rattenneuronen zu untersuchen. Das SNR ist dabei vergleichbar zu anderen Materialien und die Langzeitstabilität der Elektroden wurde ebenfalls untersucht und positiv bewertet.

In [154] wurde ein Graphenelektroden-Array auf einem flexiblen Polyimid-Substrat hergestellt und für die Aufnahme von kortikaler Aktivität *in vivo* verwendet. Das Graphen wurde mit Stickstoff dotiert und zeigte danach eine erheblich niedrigere Impedanz im Vergleich zu undotiertem Graphen. Aus Zyklovoltammetriemessungen wurde die Ladungsspeicherkapazität mit  $0,735 \text{ mC/cm}^2$  für undotiertes und  $1,953 \text{ mC/cm}^2$  für dotiertes Graphen bestimmt. Die Experimente mit dotiertem Graphen ergaben ein hohes SNR mit niedrigem Rauschen. Da die Elektroden transparent waren, konnten gleichzeitig elektrische Signale der untersuchten Hirnregion der Versuchstiere gemessen und Kalzium-Imaging durchgeführt werden. Abbildung 2.22 zeigt das verwendete transparente und flexible Elektroden-Array.

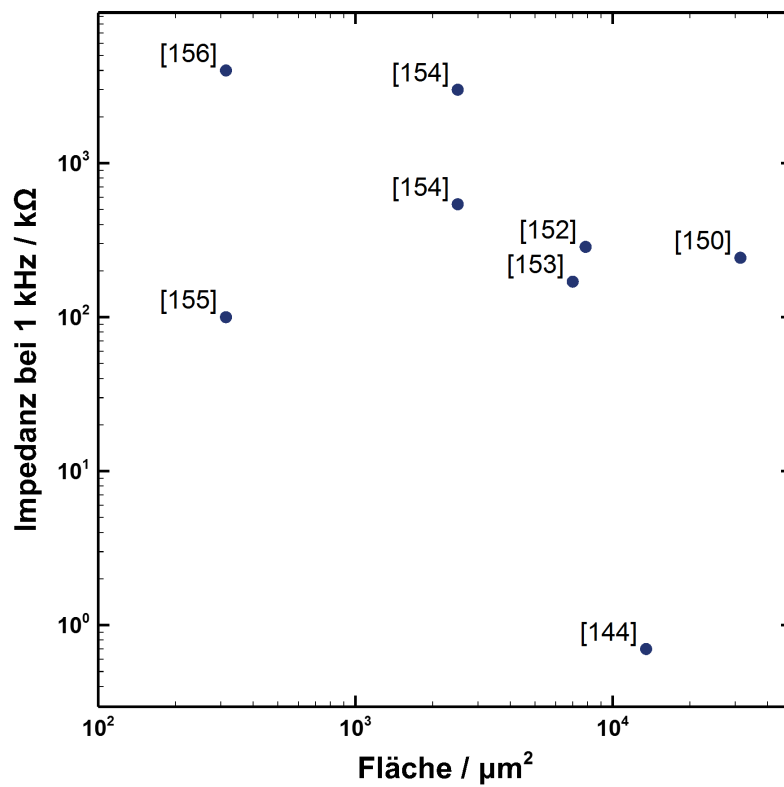
In [155] wurden Graphen-MEAs mit niedrigem Rauschen hergestellt, mit denen Herzgewebe und Herzmuskelzellen (HL-1 Zellen) gemessen wurden. Als flexibles Substrat diente hier Polyimid. Ebenfalls von diesen Autoren wurden kortikale Rattenneurone auf Graphenelektroden untersucht, allerdings hier mit Graphen auf Glassubstrat [156]. Die in beiden Veröffentlichungen verwendeten transparenten Graphenelektroden haben jeweils die gleiche Größe, zeigen aber sehr große Unterschiede in der Impedanz. Da die Herstellungs- und Transfermethoden in beiden Fällen identisch sind [157], kann der Unterschied möglicherweise auf eine ungewollte Dotierung des Graphens im Falle des Polyimid-Substrates zurückgeführt werden.



**Abbildung 2.22.:** a) Illustration eines transparenten Graphenelektroden-Arrays auf flexiblem Polyimid-Substrat. b) Array mit acht Elektroden jeweils mit einer Fläche von  $50 \times 50 \mu\text{m}$  [154].

Die Messung von Zellsignalen ist in allen Veröffentlichungen ausführlich untersucht worden, während die Stimulation nur in zwei Arbeiten thematisiert wurde [152, 154]. Ebenso werden Langzeitstabilität und Korrosionsresistenz der Elektroden lediglich in [153] und [154] untersucht.

Die bisher in der Literatur untersuchten planaren Graphenelektroden sind zumeist relativ groß und es ist fragwürdig, ob sie als Mikroelektroden bezeichnet werden können. In dem Sinne, dass die charakteristische Dimension (Radius, Kantenlänge) der Elektrode kleiner als  $100 \mu\text{m}$  ist, beschreiben nur drei Publikationen die Verwendung von Mikroelektroden [154, 155, 156]. Insbesondere im Hinblick auf die weitere Miniaturisierung der Elektroden ist die Untersuchung von Mikroelektroden wichtig. Die bisher gefundenen Impedanzwerte für Mikroelektroden liegen zwischen  $100 \text{ k}\Omega$  und  $4000 \text{ k}\Omega$  und weisen damit eine hohe Unsicherheit auf. Trägt man die Literaturwerte bei  $1 \text{ kHz}$  gegen die jeweilige Elektrodenfläche doppellogarithmisch auf, so ergibt sich der in Abbildung 2.23 gezeigte Zusammenhang. Da die Impedanz antiproportional mit der Fläche verknüpft ist, wird die Impedanz mit kleiner werdender Elektrodenfläche größer. Die Punkte mit starken Abweichungen lassen sich funktionalisierten Elektroden zuordnen: Mit Wasserdampfplasma in [144], Stickstoff-Dotierung in [154] (unterer Punkt) und vermutlich auch [155].



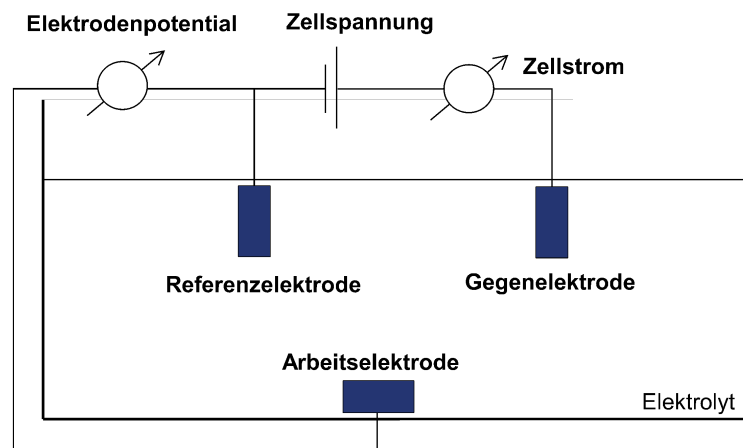
**Abbildung 2.23.:** Impedanz bei 1 kHz doppellogarithmisch aufgetragen gegen die Elektrodenfläche für die Referenzen aus Tabelle 2.1. Die starken Abweichungen von [155], [154] und [144] lassen sich funktionalisierten Proben zuordnen.



### 3 Charakterisierungsmethoden

Um die Eigenschaften von Elektrodenmaterialien untersuchen und vergleichen zu können, werden verschiedene Charakterisierungsmethoden angewandt. Sie lassen sich in drei Kategorien einteilen: elektrochemische Methoden, optische Methoden und Untersuchungen der Oberflächentopologie. Die elektrochemischen Messverfahren charakterisieren den Übergang zwischen Elektrode und Elektrolyt unter verschiedenen Strom- und Potential-Bedingungen. Dazu gehören zum einen quasi-stationäre, lineare Potentialverläufe wie bei der Zyklovoltammetrie und zum anderen Methoden mit schnellen Potentialänderungen wie Impedanzspektroskopie und Transientenmessungen. Die daraus gewonnenen Ergebnisse geben Aufschluss über die Eignung der Elektrode zur Aufnahme von Zellsignalen oder zur Stimulation und sind wichtige Kenngrößen. Die optischen Untersuchungen dienen zum einen der Überprüfung der Materialqualität durch Raman-Spektroskopie und zum anderen der Bestimmung der Durchlasseigenschaften für sichtbares Licht durch Transmissionsmessungen. Die Oberflächencharakterisierung wird mithilfe von Rasterkraftmikroskopie und Rasterelektronenmikroskopie vorgenommen und gibt Aufschluss über die Topologie und Rauheit der Elektrodenoberfläche.

#### 3.1 Elektrochemische Charakterisierung



**Abbildung 3.1.:** Elektrochemische Messanordnung mit drei Elektroden. Zwischen Referenzelektrode und Arbeitselektrode wird das Elektrodenpotential stromlos gemessen, während zwischen Arbeits- und Gegenelektrode ein Strom fließen kann.

Die Methoden, die zur Untersuchung der Schnittstelle zwischen Elektrode und Elektrolyt herangezogen werden, gehen alle auf das gleiche Prinzip zurück. Das System wird durch eine kontrollierte externe Störung aus dem Gleichgewicht gebracht und die Veränderung der Messparameter wird aufgezeichnet. Durch geschickte Wahl der experimentellen Gegebenheiten wird der Zusammenhang zwischen Stör- und Messgröße möglichst einfach gehalten. Zum Beispiel kann die Störung periodisch verlaufen oder ein einmaliges Ereignis darstellen, nach dem das System wieder in seinen Gleichgewichtszustand zurückkehrt. Aus dem dabei gemessenen Verhalten können charakteristische Größen des Systems wie das Auftreten elektrochemischer Reaktionen, die Rate, mit der sie stattfinden, oder die Größe der Doppelschichtkapazität bestimmt werden.



Die typische Messanordnung der meisten in dieser Arbeit durchgeführten elektrochemischen Messungen besteht aus drei Elektroden. In Abbildung 3.1 ist dies schematisch dargestellt. Die zu untersuchende Elektrode ist die Arbeitselektrode. Eine Referenzelektrode wird benötigt, um das Potential zu bestimmen, kann aber aufgrund ihrer Konstruktions- und Funktionsweise keinen Strom führen. Dafür wird eine weitere Elektrode, die Gegenelektrode, benutzt. Sie sollte eine große Oberfläche im Vergleich zur Arbeitselektrode aufweisen, um den Widerstand, der an ihr abfällt, zu minimieren und idealerweise vernachlässigbar klein zu halten. Aus diesem Grund wurde ein Platinnetz als Gegenelektrode gewählt. Die Referenzelektrode besteht aus einem Redoxpaar mit einem bekannten, stabilen und reproduzierbaren Potential, wie zum Beispiel Ag/AgCl, das in dieser Arbeit verwendet wurde. Dabei handelt es sich um eine Silberelektrode, die sich im Gleichgewicht mit Silberchlorid in einer gesättigten Chloridlösung befindet. Die Elektrode ist mit einer Glasummantelung von der eigentlichen Elektrolytlösung isoliert und nur eine kleine Öffnung, die mit einem für Ionen minimal durchlässigen Material ausgefüllt ist, ermöglicht eine elektrische Kopplung. Zusätzlich wird mit einem hohen Eingangswiderstand am Messgerät dafür gesorgt, dass kein Stromfluss durch die Referenzelektrode stattfindet, der das Potential verfälschen würde. Das Gleichgewichtspotential der Reaktion  $\text{AgCl} + \text{e}^- \rightarrow \text{Ag} + \text{Cl}^-$  beträgt +0,197 V vs SHE bei 25°C [15]. Entsprechend der Nernst-Gleichung ändert sich das Potential mit der Temperatur.

Bei der Messung von Makroelektroden kam eine Ag/AgCl-Referenzelektrode RE-5B<sup>1</sup> zum Einsatz. Für Messungen an Mikroelektroden mit sehr kleinen Strömen ist eine Quasi-Referenzelektrode ausreichend. Sie besteht im einfachsten Fall aus einem Draht, dessen Oberflächenpotential sich bei eingepprägtem Strom wenig ändert, wie es zum Beispiel bei Silber und Platin der Fall ist [21]. In dieser Arbeit wurde dafür ein Ag/AgCl-Pellet<sup>2</sup> verwendet. Zusätzlich musste bei der Messung der Mikroelektroden aufgrund der kleinen Signale und hohen Impedanzen auf eine Abschirmung gegen von außen induzierte Felder geachtet werden. Dazu wurde der Messaufbau in einem faradayschen Käfig untergebracht, der zusammen mit der Schirmung des Messkabels auf Masse gelegt war. Alle elektrochemischen Charakterisierungsmethoden wurden mit einem Versastat 4 Potentiostaten<sup>3</sup> durchgeführt. Als Elektrolyt diente phosphatgepufferte Salzlösung (PBS, phosphate buffered saline), die vor Beginn der Experimente mindestens eine Stunde mit Stickstoffgas deoxygeniert wurde. Alle Messungen wurden zudem bei Raumtemperatur durchgeführt.

### 3.1.1 Elektrochemische Impedanzspektroskopie

Durch die periodische Anregung des Systems mit Wechselspannung mit gleichzeitiger Variation der Frequenz kann das Impedanzspektrum einer Elektrode bestimmt werden. Dies macht sich die Elektrochemische Impedanzspektroskopie (EIS) zunutze. Dabei wird ein sinusförmiges Spannungssignal  $U(\omega) = U_0 \sin(\omega t)$  mit einer kleinen Auslenkung  $U_0$  angelegt und das resultierende Stromsignal gemessen. Nach einem Einschwingvorgang ist die Antwort ebenfalls periodisch und es kann ein Strom mit einer Phasenverschiebung von  $\theta$ , also  $I(\omega) = I_0 \sin(\omega t + \theta)$ , gemessen werden. Die daraus abgeleitete Messgröße  $Z(\omega)$  ist das Verhältnis aus angelegtem Spannungssignal und dem gemessenen Strom:

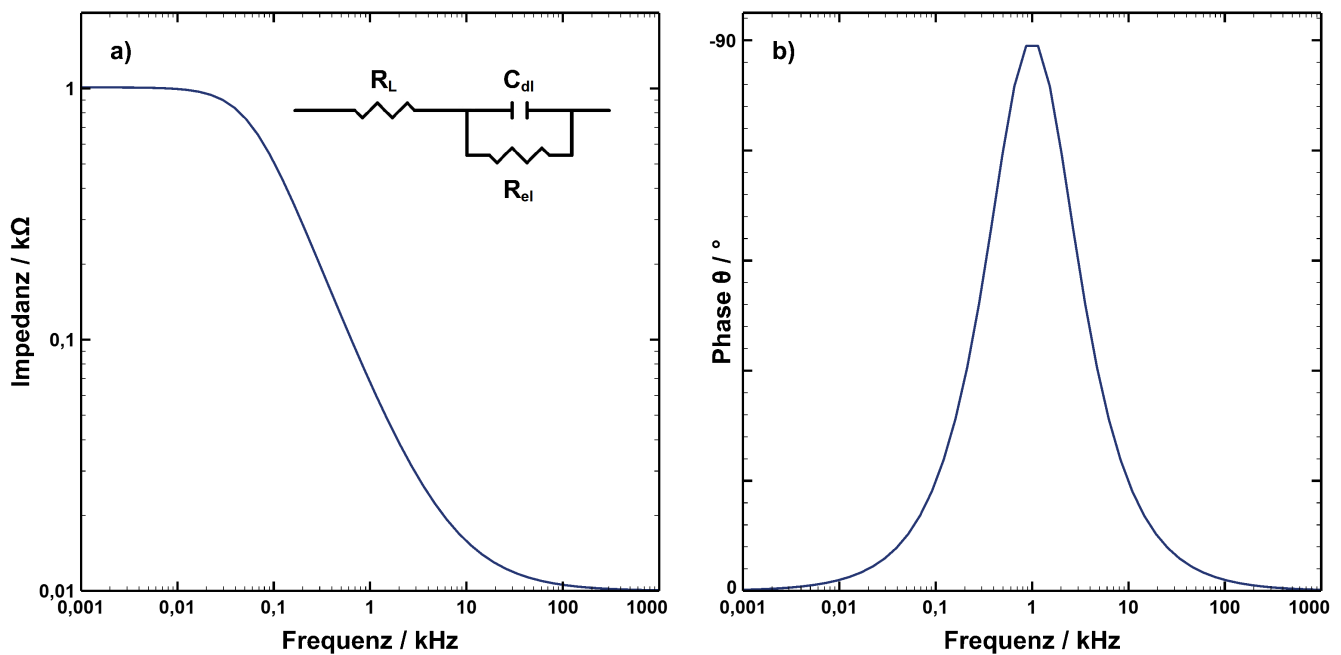
$$Z(\omega) = \frac{U(\omega)}{I(\omega)} \quad (3.1)$$

Das Impedanzspektrum lässt sich mit einem Ersatzschaltbild modellieren. Die einzelnen Bauelemente, wie zum Beispiel Kondensatoren und Widerstände, entsprechen den verschiedenen Vorgängen an der Elektrode, die einen Beitrag zu  $Z(\omega)$  liefern. Die wichtigsten Bauelemente mit ihrer physikalischen und

<sup>1</sup> Prosense, Oosterhout, Niederlande

<sup>2</sup> Multichannelsystems, Reutlingen, Deutschland

<sup>3</sup> Princeton Applied Research, Ametek, Berwyn, USA



**Abbildung 3.2.:** a) Impedanzspektrum im Bode-Diagramm mit Ersatzschaltbild:  $R_L$  beschreibt die Leitungsvorgänge, während  $R_{el}$  faradaysche Prozesse an der Elektrode repräsentiert und  $C_{dl}$  die Doppelschichtkapazität repräsentiert. In b) ist der Verlauf der Phase gezeigt.

chemischen Bedeutung im Zusammenhang mit elektrochemischen Messungen sind hier zusammengefasst:

- Widerstand  $Z_R = R$ : Zum Beispiel der Elektrolytwiderstand, der Leitungswiderstand, der Durchtrittswiderstand, oder der Reaktionswiderstand, alle frequenzunabhängig.
- Kapazität  $Z_C = \frac{1}{i\omega C}$ : Beschreibung von Ladevorgängen zum Beispiel an der elektrochemischen Doppelschicht, frequenzabhängig.
- Konstantphasenelement  $Z_{CPE} = \frac{1}{(i\omega)^\alpha Q_0}$ : Verallgemeinerung des Kondensators, wird auch zur Beschreibung der Doppelschicht herangezogen, insbesondere bei inhomogenen und rauen Oberflächen, frequenzabhängig.
- Warburgimpedanz  $Z_W = \frac{\sigma}{\sqrt{\omega}} - i \frac{\sigma}{\sqrt{\omega}}$  mit  $\sigma = \frac{RT\sqrt{2}}{(nF)^2 c_0 \sqrt{D}}$  für gleiche Konzentrationen von Produkt und Edukt [20]: entspricht einem Konstantphasenelement mit  $\alpha = 0,5$ , beschreibt die Diffusionsvorgänge im Elektrolyten, relevanter Beitrag nur bei niedrigen Frequenzen.

Abbildung 3.2 zeigt eine typische Messkurve mit dazugehörigem Ersatzschaltbild, als Bode-Plot aufgetragen. Der Widerstand  $R_L$  beschreibt die Leitungsvorgänge im Elektrolyten und dem restlichen Messaufbau. Ein weiterer Widerstand  $R_{el}$  beschreibt faradaysche Prozesse und den Durchtrittswiderstand an der Grenzfläche. Parallel dazu ist die Doppelschichtkapazität  $C_{dl}$  angeordnet. Für hohe Frequenzen dominiert die Summe der Widerstände und bei kleinen Frequenzen der Lösungswiderstand  $R_L$ . Der kapazitive Beitrag der Doppelschicht kommt bei mittleren Frequenzen zum Tragen. In diesem Fall beträgt die Phase in Abbildung 3.2 b)  $-90^\circ$ , was der Phasenverschiebung eines Kondensators entspricht. Für ein CPE ist die Phasenverschiebung kleiner als  $-90^\circ$ , aber größer als  $-45^\circ$ , denn das würde einer Warburgimpedanz entsprechen. Für den Fall, dass die Reaktionen diffusionsbegrenzt sind, würde zusätzlich zu  $R_{el}$  eine Warburgimpedanz in Reihe auftreten. Treten dagegen keine faradayschen Reaktionen auf, vereinfacht sich das Ersatzschaltbild auf einen Widerstand  $R_{ges}$  und die Doppelschichtkapazität in Reihe. Der Widerstand  $R_{ges}$  beinhaltet dann alle Leitungsvorgänge. Ebenso lässt die Frequenzabhängigkeit der

---

Phase Rückschlüsse auf die Elektroden zu. Eine ideal polarisierbare Elektrode mit vernachlässigbarem Lösungswiderstand würde  $\theta = -90^\circ$  ergeben, eine ideal nicht-polarisierbare Elektrode hingegen  $\theta = 0^\circ$ .

In dieser Arbeit wurde ein Frequenzbereich von 1 Hz bis 1 MHz mit einer Signalamplitude von 10 mV gemessen. Damit ist gewährleistet, dass der Zusammenhang zwischen  $I(\omega)$  und  $Z(\omega)$  entsprechend Gleichung 3.1 linear ist. Für EIS ist ein Aufbau mit zwei Elektroden ausreichend, da aufgrund der Messung von Wechselstrom eine Gegenelektrode nicht nötig ist [21].

---

### 3.1.2 Zykovoltammetrie

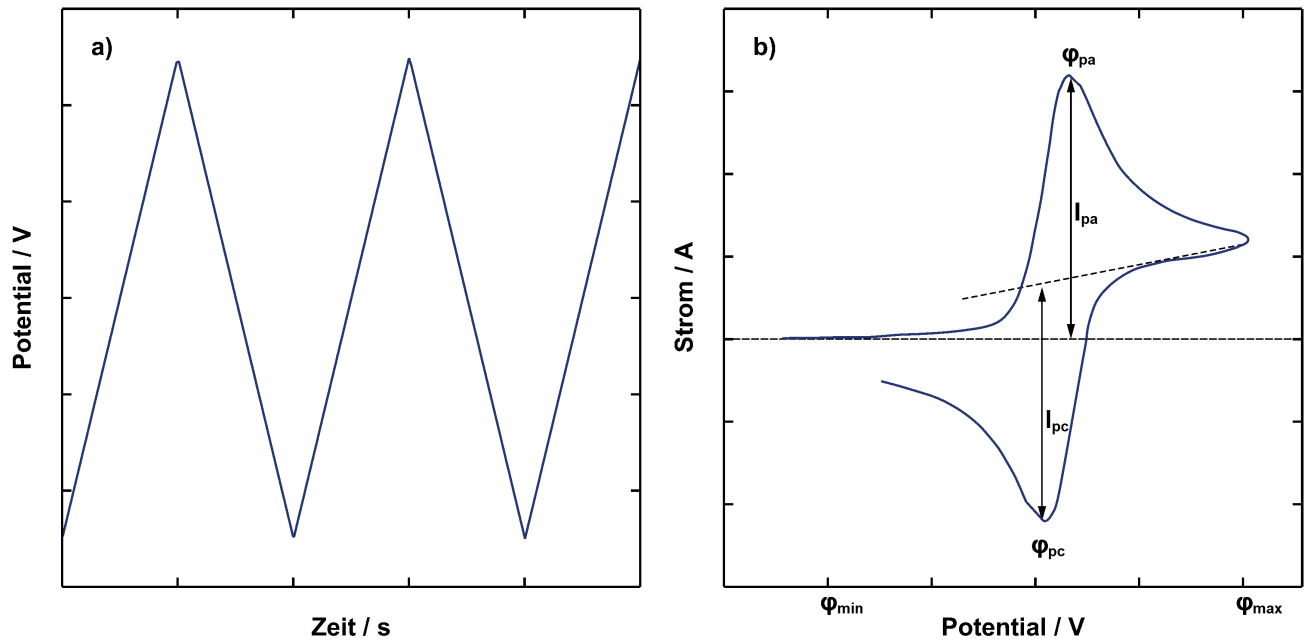
---

Eine ebenfalls auf einer periodischen Störung beruhende Methode ist die Zykovoltammetrie (CV, cyclic voltammetry). Dabei wird das Potential zwischen zwei festgelegten Umkehrpotentialen mit konstanter Rate  $\nu$  zyklisch variiert und der resultierende Strom gemessen. Die Umkehrpotentiale sollten dabei die Wasserstoff- beziehungsweise Sauerstoffzersetzungspotentiale für die untersuchte Kombination aus Elektrode und Elektrolyt nicht überschreiten. Aus einem Zykovoltammogramm können verschiedene Informationen gewonnen werden, wobei die Reinheit des Elektrolyten, das Material der Elektrode, die Wahl der Umkehrpotentiale und die Geschwindigkeit der Potentialänderung  $\nu$  das Messergebnis beeinflussen [158, 159]:

- Art der stattfindenden Prozesse wie Reaktionen, Umladung der Doppelschicht, Adsorption etc.
- Potential bei dem eine Reaktion stattfindet
- Reversibilität der stattfindenden Reaktionen
- Konzentration der aktiven Spezies:  $|I| \propto c$
- Potentiale bei denen es zur Elektrolyse des Elektrolyten kommt
- Kapazität der Doppelschicht  $C_{dl}$

In Abbildung 3.3 a) ist der Potential-Zeit-Verlauf aufgetragen und zeigt den typischen Verlauf einer Dreiecksfunktion. In Abbildung 3.3 b) ist das Zykovoltammogramm für eine reversible Reaktion gezeigt mit den Umkehrpotentialen  $\varphi_{min}$  und  $\varphi_{max}$  sowie den charakteristischen Peak-Parametern:  $I_{pa}$  und  $\varphi_{pa}$  für den anodischen sowie  $I_{pc}$  und  $\varphi_{pc}$  für den kathodischen Peak.

Der gemessene Strom ist proportional zu  $\nu$  und setzt sich allgemein aus einem faradayschen Anteil und dem Ladestrom der elektrochemischen Doppelschicht  $I_{dl}$  zusammen. Faradaysche Prozesse zeigen sich, wie in Abbildung 3.3 zu sehen ist, als Extrema in der Kurve. Der Auf- und Entladestrom der elektrochemischen Doppelschicht dagegen folgt dem typischen Ladeverhalten eines Kondensators mit einem annähernd rechteckigen Potential-Strom-Verhalten. Wenn  $\nu$  größer wird, nimmt auch  $I_{dl}$  zu und damit die Fläche unter der Kurve. Solange kein faradayscher Stromanteil vorhanden ist, lässt sich über diesen Zusammenhang  $C_{dl}$  berechnen. Auch der faradaysche Strom steigt mit der Scanrate  $\nu$ , was sich in einem größer werdenden Strommaximum äußert. Die Entstehung dieses Strommaximums liegt in dem Zusammenspiel der Aktivierungsenergie und der Diffusionslimitierung der Reaktionen begründet. Erreicht das angelegte Potential das Redoxpotential einer Reaktion, steigt der damit verbundene faradaysche Strom  $I_{ac}$ . Gleichzeitig ist die Reaktionsrate zum Beispiel durch Diffusion der Reaktanden im Elektrolyten begrenzt, weshalb  $I_{ac}$  mit der Zeit wieder sinkt. In Summe ergibt sich ein Maximum im Zykovoltammogramm und da bei größerer Scanrate jedes Potential schneller erreicht wird aber die Diffusion später einsetzt, steigt der Peakstrom mit der Scanrate [20]. Tritt ein Reaktionspeak auf, so kann dessen Lage und seine Verschiebung in Abhängigkeit von  $\nu$  dazu dienen, die Reaktion in reversible, irreversible und quasireversible Prozesse zu klassifizieren [159].



**Abbildung 3.3.:** Beispiel für eine Zyklovoltammetrie-Messung. a) Zeitlicher Verlauf des angelegten Potentials. b) Resultierendes Zyklovoltammogramm für eine reversible Reaktion.

Die Sensitivität der Methode auf Verunreinigungen der Elektrodenoberfläche führt dazu, dass die ersten Messzyklen meist nicht stabil sind und verworfen werden müssen. Gleichzeitig werden dabei aber auch die Verunreinigungen entfernt und die Oberfläche wird aktiviert. Nach 5 – 10 Zyklen ist typischerweise ein stabiler Zustand erreicht und das Zyklovoltammogramm kann aufgenommen werden. Zur Charakterisierung der Elektrodenmaterialien wurden mehrere Parameter bestimmt. Zum einen die Abhängigkeit von  $\nu$  und zum anderen die maximal und minimal möglichen Potentiale, bei denen Wasserstoff- beziehungsweise Sauerstoffentwicklung an der Elektrode auftritt. Diese sind für jedes Material unterschiedlich, liegen aber typischerweise im Bereich von  $\pm 1$  V. Für die Stimulationseigenschaften der Elektroden ist darüber hinaus die Ladungsspeicherkapazität (CSC, charge storage capacity), von Bedeutung. Diese ergibt sich aus der maximal speicherbaren Ladung an der Elektrodenoberfläche und hängt damit direkt mit der Kapazität der elektrochemischen Doppelschicht zusammen. Sie lässt sich aus folgendem Integral bestimmen [160]:

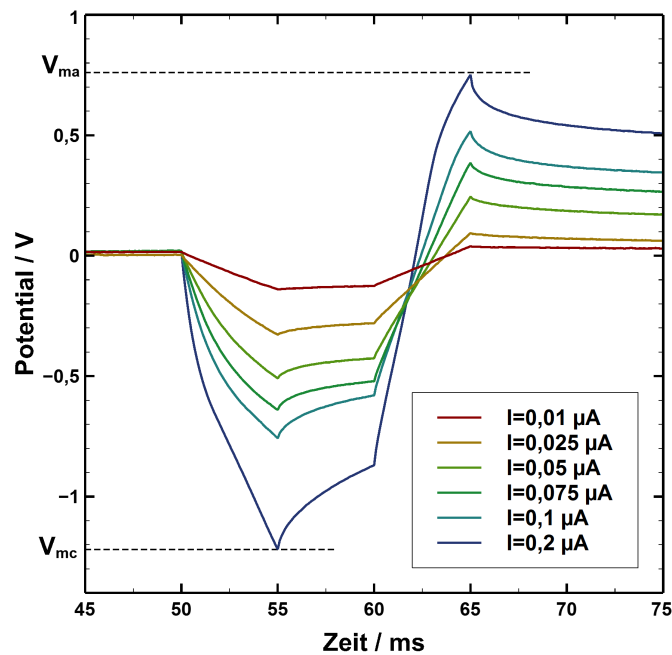
$$CSC = \frac{1}{\nu A} \int_{\varphi_{min}}^{\varphi_{max}} |I| d\varphi \quad (3.2)$$

mit  $\nu$ : Scanrate,  $A$ : Fläche der Elektrode,  $\varphi_{min}$ ,  $\varphi_{max}$ : Umkehrpotentiale,  $I$ : gemessener Strom.

Da die Zyklovoltammetrie das Verhalten bei quasi-stationären Bedingungen untersucht, können schnelle Prozesse an der Elektrode, wie sie bei der Stimulation auftreten, nicht korrekt abgebildet werden [82]. Dazu müssen alternative Verfahren angewendet werden, zum Beispiel die Transientenmessung. Beide Methoden liefern eine Abschätzung der an der Elektrodenoberfläche transferierbaren Ladungsmenge. Die CSC ist dabei eine obere Abschätzung und typischerweise größer als die Ladungsinjektionskapazität (CIC, charge injection capacity), da für langsame Prozesse eine größere Oberfläche zugänglich ist als für schnelle. Dies macht sich besonders beim Vergleich von Elektroden mit glatter und poröser Oberfläche bemerkbar, wie zum Beispiel bei Titannitrid und Gold.

### 3.1.3 Transientenmessungen

Eine einmalige Störung des Systems führt zu einer isolierten Antwort, die als Transient bezeichnet wird. In dem hier betrachteten Fall von schnellen galvanostatischen Pulsen (FGP, fast galvanic pulses), handelt es sich um eine Anregung durch kurze Strompulse und die Messung der resultierenden Spannungstransienten an der Elektrode. Dies kommt den Bedingungen an der Elektrode bei der Stimulation nahe und erlaubt die Bestimmung der Ladungsinjektionskapazität [161]. Diese ist definiert als die maximale Ladung, die eine Elektrode transferieren kann, ohne dass Wasser an ihr zersetzt wird und es zu Gasentwicklung kommt. Bei welchem maximalen und minimalen Potential dies geschieht ist materialabhängig und kann mit Zyklovoltammetrie bestimmt werden. Um die CIC zu ermitteln, wird die Elektrode mit einer Serie von Strompulsen unterschiedlicher Amplituden beaufschlagt und die entsprechenden Potentialtransienten werden aufgezeichnet. Die dabei jeweils transferierte Ladung berechnet sich aus der Dauer einer Pulsphase und dem Strom, der in dieser Zeit fließt. Nach Abzug von Spannungsanteilen, die im Elektrolyt abfallen, kann der minimale kathodische Potentialausschlag  $V_{mc}$ , beziehungsweise der maximale anodische  $V_{ma}$ , für die Transienten bestimmt werden. Dabei soll das aus der Zyklovoltammetrie bekannte Potentiallimit nicht überschritten werden, beziehungsweise es wird die Ladung gesucht, die gerade noch innerhalb dieses Bereichs liegt.



**Abbildung 3.4.:** Beispielhafte FGP-Messungen an einer Mikroelektrode durchgeführt mit biphasischen, symmetrischen Pulsen mit einer Pulsdauer von 5 ms pro Phase (vergleiche Abbildung 2.19 a) mit  $t_1 = t_2 = t_3 = 5$  ms). Die Amplitude wurde von  $0.01 \mu A$  bis  $0.2 \mu A$  variiert. Für die Stromamplitude  $I = 0.2 \mu A$  sind die beiden Potentialmaxima  $V_{mc} = -1.22$  V und  $V_{ma} = 0.75$  V eingezeichnet.

Die angelegten Pulse sind biphasisch: Eine Periode besteht aus zwei Phasen mit jeweils einer Dauer von 0,1–5 ms. Die Pulse sind zudem symmetrisch und ladungsausgeglichen, das heißt, dass der kathodische und der anodische Teil sich nur durch ihr Vorzeichen unterscheiden und in beiden Phasen die gleiche Ladung transferiert wird. Zwischen beiden Phasen wird der Strom für die Dauer einer Pulsphase auf Null gehalten, vergleiche Abbildung 2.19. Die Amplituden werden je nach Material variiert, um den jeweils relevanten Potentialbereich abzudecken. Wenn kein Strom angelegt wird, kehrt die Elektrode zu ihrem Leerlaufpotential zurück. In Abbildung 3.4 ist eine solche Serie von FGP-Messungen mit Anregungsam-

---

plituden von  $0,01\ \mu\text{A}$  bis  $0,2\ \mu\text{A}$  aufgetragen und  $V_{\text{mc}}$  sowie  $V_{\text{ma}}$  für  $I = 0,2\ \mu\text{A}$  eingezeichnet, wobei  $V_{\text{mc}}$  hier  $-1,22\ \text{V}$  und  $V_{\text{ma}}$   $0,75\ \text{V}$  beträgt. Da die erste Pulsphase kathodisch ist, ergibt sich hier ein stärkere Ausschlag. Die transferierte Ladung lässt sich aus den angelegten Pulsen berechnen und kann im Fall der hier verwendeten Rechteck-Pulse über den Zusammenhang  $Q = I \cdot t$  bestimmt werden. In diesem Beispiel ist der Spannungsabfall im Elektrolyten vernachlässigbar, da an einer Mikroelektrode mit hoher Impedanz gemessen wurde. Andernfalls würde ein Potentialsprung direkt bei Beginn des Strompulses auftreten [160].

Die aus den einzelnen Kurven extrahierten kathodischen Maximalpotentiale  $V_{\text{mc}}$  werden zur Bestimmung der CIC gegen die pro Pulsphase transferierte Ladung aufgetragen. Der Schnittpunkt der Kurve mit der maximalen sicher übertragbaren Ladung, die aus Zyklovoltammetrie-Messungen bekannt ist, ergibt die CIC. Sie wird bezogen auf die Elektrodenfläche in  $\text{mC}/\text{cm}^2$  angegeben. Da  $V_{\text{ma}}$  in allen betrachteten Fällen betragsmäßig kleiner als  $V_{\text{mc}}$  war, wurde es nicht weiter untersucht.

---

## 3.2 Optische Charakterisierung

---

Die Charakterisierung mit optischen Methoden dient hier zum einen zur Identifizierung von Graphen und der Analyse der Materialqualität und zum anderen der Bestimmung der Transparenz.

---

### 3.2.1 Raman-Spektroskopie

---

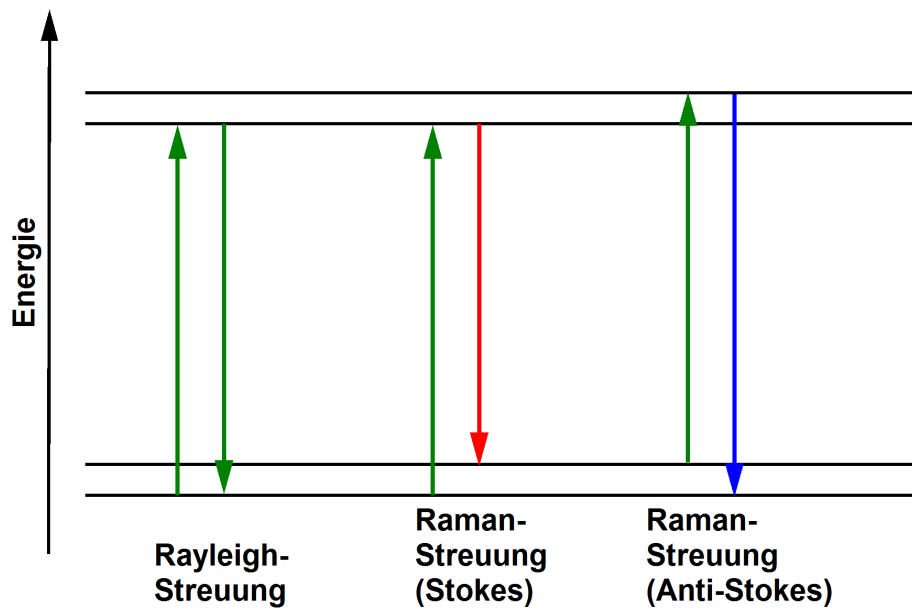
Eine Standardmethode der Materialcharakterisierung ist die Raman-Spektroskopie. Mit ihr lassen sich unter anderem Struktur, Zusammensetzung, Kristallinität, Defekte und Verspannungen von abiotischer und biotischer Materie untersuchen. Dabei wird die inelastische Wechselwirkung von sichtbarem Licht mit Elektronen und Phononen des Materials genutzt. Insbesondere sind Molekülschwingungen und Phononen detektierbar, bei denen sich die Polarisation ändert [162].

Trifft monochromatisches, sichtbares Licht auf Materie, so wird der größte Anteil elastisch gestreut. Dabei verlieren die Photonen durch die Streuung an den Elektronen keine Energie und es tritt keine Veränderung ihrer Wellenlänge auf (Rayleigh-Streuung). Ein kleiner Anteil des Lichts wechselwirkt jedoch inelastisch und wird Raman-gestreut. Dabei können zwei Mechanismen auftreten. Bei der Stokes-Streuung wird ein Elektron aus seinem Grundzustand angeregt, während der Anti-Stokes-Prozess nur stattfinden kann, wenn ein Elektron sich schon in einem angeregten Zustand befindet. Dies ist bei Raumtemperatur selten der Fall, weswegen dieser Streuprozess stark unterdrückt ist. Der Großteil des Raman-gestreuten Lichts hat daher eine kleinere Wellenlänge als das einfallende. In Abbildung 3.5 sind die drei verschiedenen Streuprozesse zusammengefasst. Die Energiedifferenz wird auf Phononen oder Defekte im Kristallgitter übertragen und ist charakteristisch für das jeweilige Material und die dort stattfindenden Wechselwirkungen zwischen Elektronen und Gitter. Durch spektrale Zerlegung und Detektion des emittierten Lichts können Intensitätsmaxima bestimmt werden, die mit den angeregten Schwingungsmoden korrelieren. Das Raman-Spektrum wird in Bezug auf die Wellenlängenverschiebung des eingestrahnten Lichtes angegeben.

Raman-Spektroskopie ist eine der bevorzugten Methoden um Graphen und andere Kohlenstoffverbindungen zu charakterisieren, da sich aus den Spektren die Anzahl der Lagen, die Schichtfolge bei mehrlagigen Systemen, die Defektdichte und damit die Qualität, Dotierungen und Spannungen im Material zerstörungsfrei analysieren lassen. Graphen hat zudem den Vorteil, dass aufgrund seiner Bandstruktur ohne Bandlücke die Übergänge mit beliebigen Wellenlängen anregbar sind. Im Gegensatz dazu braucht die vollständige Charakterisierung von CNTs zwei verschiedene Anregungswellenlängen. Die typischen und prägnantesten Maxima einer Graphen-Monolage (SLG) sind hier aufgeführt:

- D-Band: Defekt-induzierte Streuung, tritt vor allem an Rändern auf, typisch für  $\text{sp}^3$ -hybridisierte Kohlenstoffatome, Intensitätsmaximum bei  $\sim 1350\ \text{cm}^{-1}$





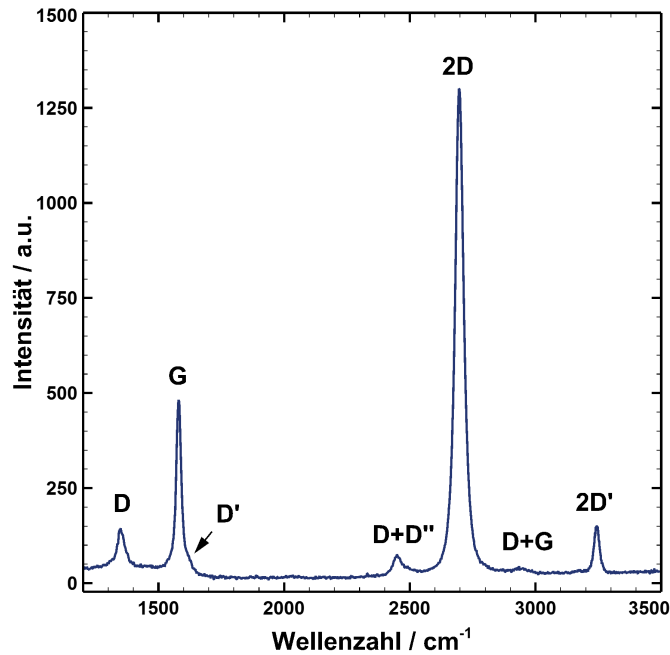
**Abbildung 3.5.:** Die Wechselwirkungen von Elektronen und Photonen in einem Material. Bestrahlung mit monochromatischem Licht regt die Elektronen auf ein höheres Energieniveau an. Im Falle der elastischen Rayleigh-Streuung ist die einfallende Wellenlänge gleich der abgestrahlten. Raman-Streuung ist ein inelastischer Streuprozess: Die abgestrahlte Wellenlänge ist kleiner (Stokes-Prozess) oder größer (Anti-Stokes-Prozess) als die eingestrahlt.

- G-Band: Schwingung der C-Atome in der Ebene, typisch für  $sp^2$ -Hybridisierung, Intensitätsmaximum bei  $\sim 1580 \text{ cm}^{-1}$
- 2D-Band: Peak mit größter Intensität bei SLG, beruht auf einem Zwei-Phononen-Streuprozess, Intensitätsmaximum bei  $\sim 2700 \text{ cm}^{-1}$  mit einer Halbwertsbreite (FWHM, full width at half maximum) von  $\sim 25 \text{ cm}^{-1}$

Dazu kommen noch weitere Defekt-induzierte Peaks wie  $D'$  und  $D''$ , sowie weitere zwei-Phononen-Prozesse wie  $D+D''$  und  $2D'$  [163]. Diese sind jedoch oft schwach ausgeprägt und daher nicht in allen Spektren identifizierbar. In Abbildung 3.6 ist ein Spektrum von SLG abgebildet, in dem die sichtbaren Intensitätsmaxima den jeweiligen Prozessen zugeordnet sind. Die genaue Position der Peaks hängt zusätzlich von der Wellenlänge des eingesetzten Lasers ab. Die hier angegebenen Werte beziehen sich auf eine Anregungswellenlänge von 514,5 nm.

Um die Qualität von Graphen zu beurteilen, werden hauptsächlich zwei Parameter aus dem Spektrum verwendet: Die Anzahl der Lagen und die Defektdichte. Letztere lässt sich aus dem Verhältnis der Intensitäten des D- und des G-Peaks  $I_D/I_G$  bestimmen. Eine größere Intensität des D-Bandes hängt direkt mit einem höheren Anteil an  $sp^3$ -hybridisiertem Kohlenstoff und damit einer unterbrochenen Graphenlage zusammen. Mögliche Defekte sind Ränder, Korngrenzen, Gitterfehler und Verunreinigungen. Für SLG gilt  $0,05 < I_D/I_G < 0,3$  [33]. Für die Anzahl der Lagen ist die Breite und die Wellenzahl des 2D-Peaks ausschlaggebend. Bei Multilagen ist der Peak verbreitert und zu höheren Wellenzahlen hin verschoben ( $I_{2D} > 2700 \text{ cm}^{-1}$ ). Bei zunehmender Anzahl an Lagen kann der Peak mit mehreren Lorentzkurven gefittet werden und geht bei ungefähr zehn Lagen in das Verhalten von Graphit über [164]. Das Verhältnis von  $I_G$  zu  $I_{2D}$  ist ein weiterer Indikator für die Anzahl der Lagen, vor allem bei CVD-Graphen. Werte im Bereich  $0,5 < I_G/I_{2D} < 1$  werden mit ein bis zwei Schichten in Verbindung gebracht [165]. Das G-Band hat keine Abhängigkeit von der Anzahl der Lagen, aber es zeigt eine Verschiebung zu höheren Wellenzahlen bei Dotierung oder Spannungen im Material [163].





**Abbildung 3.6.:** Vollständiges Raman-Spektrum einer Graphen-Monolage mit moderater Defektdichte.

CVD-Graphen liegt oft als turbostratisches Graphen vor. Dieses zeichnet sich durch einen größeren Abstand zwischen einzelnen Graphenlagen und eine uneinheitliche Stapelfolge aus. Da die Schichten somit entkoppelt sind, ähneln die Raman-Spektren denen des SLG. Turbostratisches Graphen zeigt einen nur leicht zu höheren Wellenlängen hin verschobenen und verbreiterten 2D-Peak ( $\text{FWHM} \approx 30 - 83 \text{ cm}^{-1}$ ), der mit nur einer Lorentzkurve gefittet werden kann. Zusätzlich ist das Verhältnis  $I_G/I_{2D}$  größer [33].

Die Raman-Messungen in dieser Arbeit wurden hauptsächlich mit einem WITec alpha300 R Gerät<sup>4</sup> mit einer Anregungswellenlänge von 532 nm und einem 100x Objektiv durchgeführt. Das Gerät erlaubt zudem einen 2D-Scan der Oberfläche. Ein Mikro Raman Spektrometer Horiba LabRAM HR 8000<sup>5</sup> mit einer Anregungswellenlänge von 514,5 nm und einem 50x Objektiv wurde für die Messung der Makroelektroden verwendet. Aufgrund der ähnlichen Wellenlängen sind die Ergebnisse gut vergleichbar.

### 3.2.2 Transmissionsmessungen

Um den Transmissionsgrad  $T$  zu messen, wird sichtbares Licht durch die Probe geleitet und anschließend in seine spektralen Komponenten aufgeteilt und analysiert.  $T$  ist definiert als das Verhältnis der Intensität  $I$  nach Durchgang durch die Probe zur Eingangsintensität  $I_0$ . Für senkrechten Lichteinfall gilt:

$$T = \frac{I}{I_0} \quad (3.3)$$

Die Differenz der beiden Intensitäten wird entweder reflektiert oder vom Material absorbiert. Ist die zu untersuchende Probe auf einem Glassubstrat aufgebracht, so muss in einer zweiten Referenzmessung das Substrat alleine vermessen werden, um die Transmission für die Probe korrekt bestimmen zu können.

Die Transmissionsmessungen wurden mit einem Spectro 320 Scanning Spektrometer<sup>6</sup> durchgeführt.

<sup>4</sup> WITec, Ulm, Deutschland

<sup>5</sup> Horiba GmbH, Bensheim, Deutschland

<sup>6</sup> Instruments Systems GmbH, München, Deutschland

---

### 3.3 Charakterisierung der Oberfläche

---

Die Beschaffenheit der Oberfläche hat großen Einfluss auf die elektrochemischen Eigenschaften der Elektrode. Insbesondere vergrößert eine erhöhte Rauheit die aktive Oberfläche. Mit den folgenden zwei Methoden lassen sich detaillierte Bilder der Probenoberfläche erzeugen und die Rauheit bestimmen.

---

#### 3.3.1 Rasterelektronenmikroskopie

---

Da das Auflösungsvermögen eines optischen Mikroskops durch die Wellenlänge des verwendeten Lichts auf ungefähr  $0,5\ \mu\text{m}$  begrenzt wird, muss für eine höhere Auflösung die Wellenlänge verkleinert werden. Im Fall des Rasterelektronenmikroskops (REM) werden Elektronen als abbildendes Medium verwendet. Die Probe wird dabei im Vakuum mit einem durch Magnetspulen fokussierten und abgelenkten Elektronenstrahl abgerastert. Damit kann eine Auflösung von  $1\ \text{nm}$  erreicht werden und die Bilder weisen eine hohe Schärfentiefe auf [166].

Die Wechselwirkungen der Elektronen mit der zu untersuchenden Probe sind vielfältig, weshalb unterschiedliche Informationen über die Probe gewonnen werden können. Der größte Teil der eingestrahnten Elektronen, die Primärelektronen, streut inelastisch mit Elektronen der äußeren Atomhülle. Dabei werden Sekundärelektronen freigesetzt, die detektiert werden und ein detailliertes Bild der Oberfläche abgeben. Die Erzeugung der Sekundärelektronen ist abhängig vom Einfallswinkel. Treffen die Primärelektronen auf einen Atomkern, dann werden sie elastisch zurück gestreut und können detektiert werden. Im Falle einer Wechselwirkung mit Elektronen aus einer inneren Schale wird ein Röntgenphoton erzeugt und gibt die Möglichkeit, Energiedispersive Röntgenspektroskopie einzusetzen. Weitere Wechselwirkungen wie die Kathodolumineszenz oder die Erzeugung von Auger-Elektronen treten materialspezifisch ebenfalls auf. Je nach Energie der Primärelektronen treten die Streuprozesse nur in der Nähe der Oberfläche oder bis in eine Tiefe von mehreren  $\mu\text{m}$  auf. Der Primärelektronenstrom  $I_0$  teilt sich in die folgenden Hauptbeiträge auf:

$$I_0 = I_{\text{SE}} + I_{\text{RE}} + I_{\text{P}} \quad (3.4)$$

Dabei ist  $I_{\text{SE}}$  der Anteil der Sekundärelektronen,  $I_{\text{RE}}$  der Anteil der Rückstreuielektronen und  $I_{\text{P}}$  der Anteil der Elektronen, die in der Probe verbleiben [166]. Aufgrund dieses Aufladungseffekts, der die Bildqualität negativ beeinflusst, sind metallisch leitende Proben einfacher zu untersuchen. Isolierende Materialien werden daher häufig mit einer dünnen Metallschicht bedampft und geerdet, um dieses Problem zu umgehen.

Die REM-Oberflächenuntersuchung wurde mit einem Phenom ProX desktop REM<sup>7</sup> durchgeführt.

---

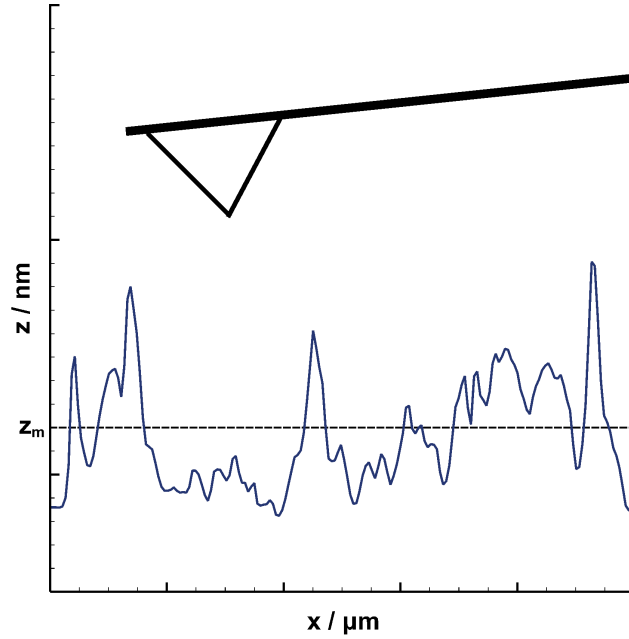
#### 3.3.2 Rasterkraftmikroskopie

---

Die genaue Oberflächenstruktur einer Probe kann mit einem Rasterkraftmikroskop (AFM, atomic force microscope) untersucht werden. Die Oberfläche wird dabei mit der Spitze eines Schwingarms (Cantilever) abgetastet und die Wechselwirkungskräfte zwischen Spitze und Probe werden gemessen [167]. Die Topographie und die physikalischen Eigenschaften der Probe bestimmen dabei die lokalen Interaktionen und durch Abrastern der Oberfläche kann eine Abbildung der Wechselwirkungen erzeugt werden. Die Topographie der Oberfläche kann bis zu einer Auflösung von  $10\text{--}20\ \text{nm}$  vertikal zu Oberfläche und  $0,1\ \text{\AA}$  lateral bestimmt werden [166].

---

<sup>7</sup> Thermo Fisher, Waltham, USA



**Abbildung 3.7.:** Prinzip einer AFM-Messung: Mit einer feinen Spitze an einem Cantilever wird die Oberfläche mechanisch abgetastet und ein hochauflösendes Bild erstellt. Durch Bestimmung des Wertes der Mittellinie  $z_m$  kann die mittlere Rauheit  $R_m$  berechnet werden.

Die Wechselwirkungen zwischen Spitze und Probe können auf Van-der-Waals-Kräften, Kapillarkräften, Coulombkräften oder magnetischen Wechselwirkungen zurückzuführen sein, daher werden je nach Betriebsmodus unterschiedliche Informationen über die Oberfläche gewonnen [168].

Der Cantilever wird piezoelektrisch über die Oberfläche gerastert und seine Schwingungen und seine Position wird mit einem Laserstrahl bestimmt. Der Laserstrahl wird dazu am Cantilever reflektiert und fällt auf eine Photodiode, an der die genaue Position abgelesen werden kann. Verschiedene Messmodi erlauben die Untersuchung unterschiedlicher Parameter: Zum Beispiel kann im Kontaktmodus mit konstanter Höhe oder konstanter Kraft gemessen werden. Hier ist die Messgröße die Stärke der Auslenkung des Cantilevers. Dynamische Modi wie der Nicht-Kontakt-Modus und der intermittierende Modus messen die Änderung der Resonanzfrequenz beziehungsweise die Amplitudenänderung der erzwungenen Schwingung des Cantilevers. Aus der gemessenen Topographie lässt sich die mittlere Rauheit  $R_m$  entlang einer Linie auf der Oberfläche bestimmen:

$$R_m = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |z_i - z_m| \quad (3.5)$$

Für jeden Punkt  $i$  entlang des Profils wird der Wert der Mittellinie  $z_m$  von der Höhe des  $i$ -ten Punkts  $z_i$  abgezogen. Abbildung 3.7 zeigt so ein Profil. Analog ist die quadratische Rauheit  $R_q$  als die quadratische Abweichung vom Mittelwert und die Flächenrauheit  $R_a$  als Abweichung vom Flächenmittelwert definiert [169].

$$R_a = \frac{1}{NM} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^M |z(x_i, y_j) - z_m| \quad (3.6)$$

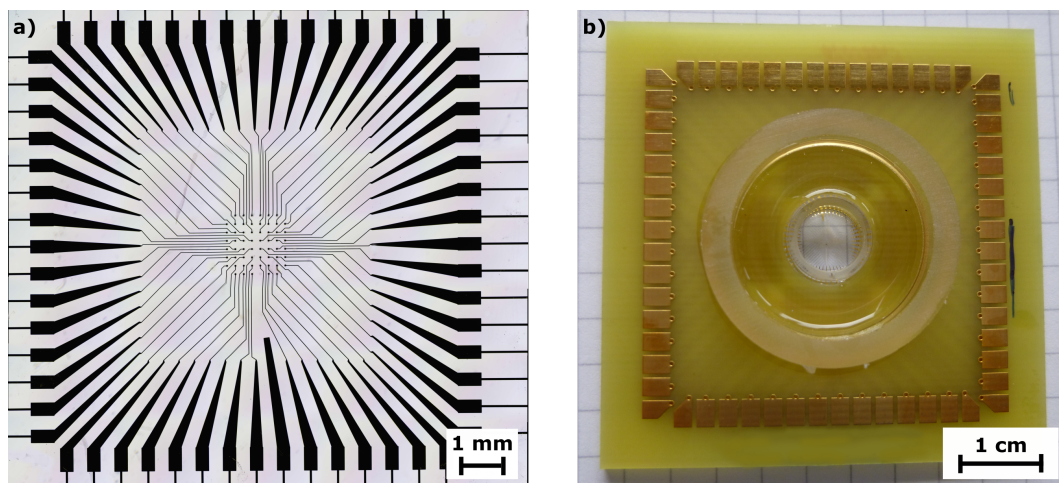
Die Messung der Oberflächentopographie wurde mit dem Asylum Research AFM MFP-3D<sup>8</sup> durchgeführt.

<sup>8</sup> Oxford Instruments, Abingdon, UK

## 4 Herstellung der Elektroden

In diesem Kapitel werden die Prozesse zur Fertigung der in dieser Arbeit verwendeten Elektroden beschrieben. Anhand ihrer Größe werden die Elektroden in „Makro“ mit einer Fläche von  $0,31\text{ mm}^2$  und in „Mikro“ mit einer Fläche von  $707\text{ }\mu\text{m}^2$  eingeteilt. Sie werden jeweils in drei Materialkombinationen hergestellt: Gold, Gold mit Graphen-Beschichtung und Graphen auf einem isolierenden Substrat.

Der grundsätzliche Aufbau eines MEA-Chips mit Goldelektroden ist in Abbildung 4.1 gezeigt. In a) ist der photolithographisch hergestellte Glaschip mit Goldleiterbahnen und dem Mikroelektroden-Array in der Mitte abgebildet. Das Array besteht aus 59 kreisförmigen Mikroelektroden, die jeweils einen Durchmesser von  $30\text{ }\mu\text{m}$  und damit eine Oberfläche von  $707\text{ }\mu\text{m}^2$  haben. Ihr Mittelpunktabstand beträgt  $200\text{ }\mu\text{m}$ . Eine interne Referenzelektrode mit einer Fläche von  $0,267\text{ mm}^2$  ist ebenfalls in den Chip integriert. Jede Mikroelektrode ist mit einer  $10\text{ }\mu\text{m}$  breiten Leiterbahn verbunden, die an die Außenkante des Chips geführt wird und dort in einem Kontaktfeld ( $300\text{ }\mu\text{m} \times 550\text{ }\mu\text{m}$ ) endet. In Abbildung 4.1 b) ist der fertige Chip gezeigt, der aus dem Glaschip, einer Leiterplatte und einer Kulturkammer besteht.



**Abbildung 4.1.:** a) Glaschip mit Goldleiterbahnen und Mikroelektroden-Array in der Mitte. b) Für den Einsatz vorbereiteter MEA-Chip mit Leiterplatte und Kammer für die Zellkultur.

### 4.1 Herstellung und Transfer von Graphen

Die Herstellung des Graphens erfolgt durch chemische Gasphasenabscheidung von Methan auf Kupfer. Kupferfolie wird dabei in Wasserstoffatmosphäre auf  $1000^\circ\text{C}$  erhitzt und für 20 s wird Methangas eingeleitet. Auf der Metalloberfläche zersetzt sich das Gas und Kohlenstoffatome lagern sich zu einer Graphenschicht zusammen, wie in Abschnitt 2.2.1 genauer beschrieben ist. Nach erfolgreicher Abscheidung wird die Kupferfolie in Wasserstoffatmosphäre abgekühlt. Für den anschließenden Transferschritt werden die Ränder der Graphenschicht mit einem Polymerfilm stabilisiert und das Kupfer mittels Ätzlösung entfernt. Als Ätzlösung wird 1 M Ammoniumpersulfat verwendet. Nach dem Entfernen des Metalls wird die Flüssigkeit schrittweise gegen Wasser ausgetauscht, wobei die Graphenschicht mitsamt dem Polymerrahmen an der Oberfläche schwimmt. Das Graphen kann nun auf einem beliebigen Substrat platziert werden. Im nächsten Schritt wird der Rahmen entfernt und der Chip bei Raumtemperatur

---

getrocknet. Bei Bedarf kann der Prozess wiederholt werden, um eine bessere Flächenabdeckung mit Graphen zu erreichen. Durch den Einsatz eines Polymerrahmens anstatt eines flächig aufgetragenen Polymerfilms zur Stabilisierung des Graphens wird einer Verunreinigung der Graphenoberfläche mit organischen Verbindungen vorgebeugt [170].

Die Herstellung und der Transfer von Graphen auf die MEA-Chips ist von Peter Krauß im Labor von Professor Schneider am Eduard-Zintl-Institut der Technischen Universität Darmstadt vorgenommen worden. Das genaue Vorgehen und weiterführende Informationen zu Synthese und Transfer sind in [170] und [171] veröffentlicht.

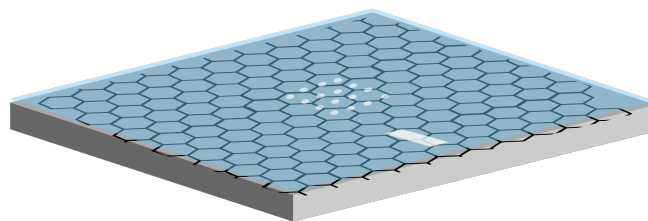
---

## 4.2 Strukturierung von Makroelektroden

---

Für erste Tests des Transferprozesses und der Materialien ist Graphen flächig auf isolierende Substrate transferiert und mit einem einfachen Prozess strukturiert worden. Der Vorteil liegt darin, dass die Materialcharakterisierung schnell erfolgen kann und Materialkombinationen einfach getestet werden können. Zudem ist so ein Vergleich mit Literaturwerten großer Elektroden möglich.

Die Herstellung erfolgt durch den Transfer von Graphen auf einen p-dotierten (100) Siliziumchip mit einer thermisch gewachsenen 600 nm dicken Siliziumdioxidschicht und einer Größe von ungefähr 12 x 12 mm. Anschließend erfolgt die Beschichtung mit SU-8<sup>1</sup>, einem widerstandsfähigen und aushärtbaren Photolack. Dieser wird mit der Maske für die Mikroelektroden-Arrays strukturiert und ausgehärtet. Die Fläche der Makroelektrode setzt sich zusammen aus 59 Mikroelektroden und der Referenzelektrode und addiert sich zu 0,31 mm<sup>2</sup>. Die leitende Verbindung zwischen den Elektroden und den Kontaktflächen wird alleine durch Graphen hergestellt. In Abbildung 4.2 ist der Aufbau schematisch gezeigt. Hier wird ausgenutzt, dass ein zusammengeschaltetes Array von Mikroelektroden sich wie eine Makroelektrode verhält (vergleiche Abschnitt 2.1.2). Nach dem gleichen Prinzip sind die anderen beiden Materialien Gold und Gold / Graphen gefertigt worden, mit dem Unterschied, dass hier die Goldleiterbahnen definiert waren und die Elektroden nachträglich zusammengeschlossen worden sind [172].



**Abbildung 4.2.:** Chip mit einer Makroelektrode bestehend aus mit Graphen verbundenen Mikroelektroden. Zusammen ergibt sich eine Elektrode mit einer Oberfläche von 0,31 mm<sup>2</sup>.

---

## 4.3 Strukturierung von Mikroelektroden-Arrays

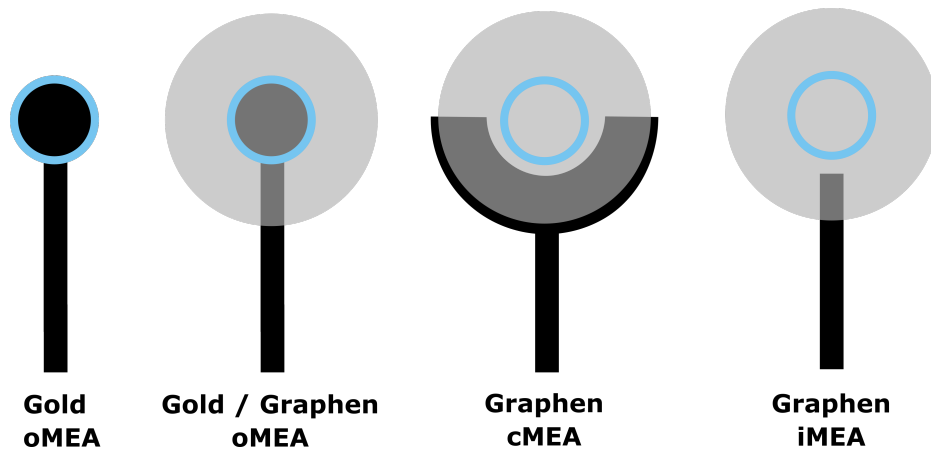
---

Die Miniaturisierung von einer Makroelektrode auf Mikroelektroden-Arrays erfordert mehr Prozessschritte. Der zentrale Schritt ist dabei die Strukturierung des Graphens. Das Standard-Vorgehen ist die Maskierung mit Photolack und anschließendes Ätzen des Graphens in Sauerstoffplasma. Aufgrund der dadurch entstehenden Verunreinigungen mit Photolack auf den zu untersuchenden Elektroden ist für diese Arbeit ein Lift-off-Prozess für Graphen entwickelt worden [51, 52, 172].

---

<sup>1</sup> Micro Resist Technology GmbH, Berlin, Deutschland

Je nach zu untersuchendem Material bestehen die Elektroden aus Gold, Gold mit Graphen-Beschichtung oder nur Graphen, was auf einem Glassubstrat transparente Elektroden ergibt. Um den elektrischen Kontakt an die Leiterbahnen für die transparenten Elektroden zu realisieren, sind im Rahmen dieser Arbeit für den Lift-off-Prozess optimierte Elektrodenkontakte entwickelt worden. Dabei sind zwei verschiedene Layouts getestet worden, die zur besseren Unterscheidung als iMEA und cMEA bezeichnet werden. Die Buchstaben beziehen sich dabei auf die jeweilige Form der Elektrodenkontakte. Analog dazu kann die Standardkonfiguration mit gefüllten, kreisförmigen Elektroden mit oMEA bezeichnet werden. Die unterschiedlichen Konfigurationen der Mikroelektroden sind in Abbildung 4.3 gezeigt.

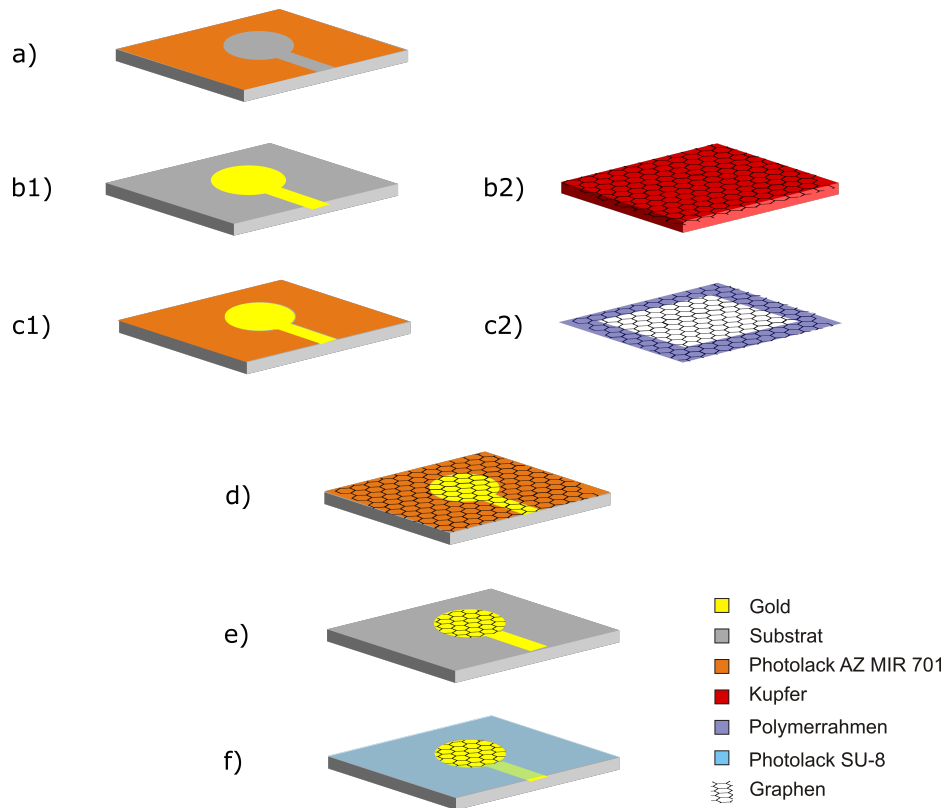


**Abbildung 4.3.:** Schematische Layouts der Mikroelektroden für verschiedene Materialien. Die Goldleiterbahnen sind schwarz dargestellt, der kleine blaue Kreis zeigt die aktive Elektrodenfläche und die große graue Kreisfläche stellt die Bedeckung mit Graphen dar: Von links nach rechts oMEA, cMEA und iMEA. Die cMEA- und iMEA-Konfigurationen sind für transparente Graphenelektroden entwickelt worden.

Im Folgenden werden die Prozessschritte zuerst anhand eines oMEA-Chips mit Graphenbeschichtung erläutert und anschließend die Anpassungen für transparente Graphenelektroden gezeigt. Die einzelnen Schritte zur Herstellung sind in Abbildung 4.4 schematisch dargestellt und Details zu den verwendeten Materialien und Geräten sind im Anhang in Tabelle A.1 zusammengefasst. Für einen MEA-Chip mit Goldelektroden sind die Arbeitsschritte identisch, wobei kein Graphen-Transfer erfolgt.

Als Substrat dient ein Glaswafer mit 100 mm Durchmesser und einer Dicke von 700  $\mu\text{m}$ . Nach der Reinigung wird ein Negativ-Photolack aufgeschleudert und strukturiert. Die Maske ist so gestaltet, dass 30 Chips auf einem Wafer gleichzeitig hergestellt werden können. Im nächsten Schritt wird zunächst 10 nm Chrom als Haftschicht und anschließend 100 nm Gold aufgesputtert. Anschließend wird der Photolack im Entwicklerbad gelöst und entfernt dabei die Metallschicht mit. Dies definiert die Goldleiterbahnen sowie die Kontakt- und Elektrodenflächen. Der Wafer wird anschließend in Chips mit einer Größe von 14 x 14 mm vereinzelt. Die einzelnen Chips werden mit einer weiteren Schicht Photolack bedeckt. Hierbei wird ein Positiv-Photolack verwendet, da dieser die besten Ergebnisse für den Graphen Lift-off liefert. Bei der folgenden Strukturierung wird eine entsprechende Negativ-Maske verwendet, um identische Strukturen zum ersten Lift-off-Prozess zu erhalten. Im Anschluss erfolgt der Transfer von Graphen auf den vorstrukturierten Chip. Der Photolack wird in Aceton unter leichter Bewegung der Flüssigkeit gelöst und entfernt dabei das Graphen selektiv mit. Im nächsten Schritt wird die Isolationsschicht auf dem Chip aufgetragen und strukturiert. Durch diese Schicht werden die Elektroden auf einen Durchmesser von 30  $\mu\text{m}$  definiert. Abschließend wird der Epoxidlack bei 175° C ausgehärtet. Die vor- und nachgelagerten Prozessschritte zum Graphentransfer sind unter Reinraumbedingungen ausgeführt worden.





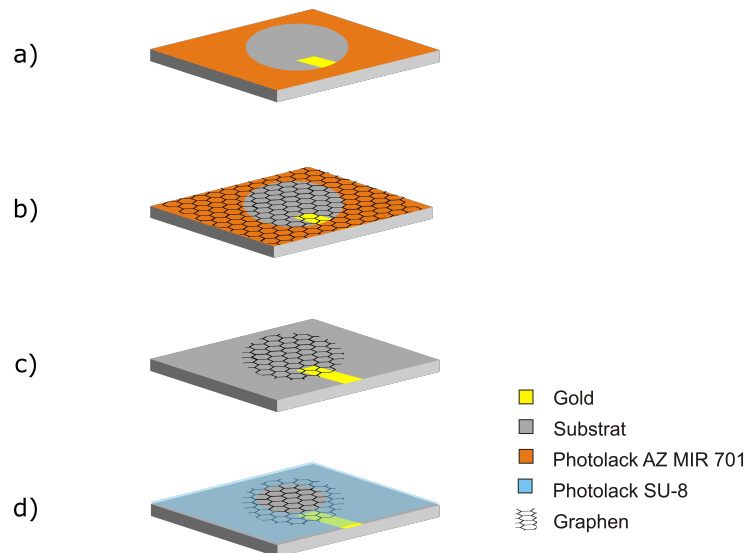
**Abbildung 4.4.:** Schematische Prozessschritte zur Herstellung einer mit Graphen beschichteten Goldelektrode. a) Strukturierung des Substrats mit Negativ-Photolack. b1) Sputter-Deposition von Chrom und Gold sowie anschließender Lift-off. c1) Strukturierung des Substrats mit Positiv-Photolack. b2) Synthese von Graphen auf Kupferfolie mittels CVD. c2) Ätzen des Kupfers und Isolation des Graphens auf einem Polymerrahmen. d) Beschichtung des vorbereiteten Substrats mit Graphen. e) Lift-off mit Graphen. f) Aufbringen und Strukturierung der Isolationsschicht.

#### 4.3.1 Transparente Graphenelektroden

Da der Kontakt zu den Leiterbahnen gewährleistet sein muss, ohne dass die Elektrodenfläche mit Gold in Berührung kommt, muss für transparente Graphenelektroden der mit Graphen bedeckte Bereich größer sein als die eigentliche Elektrodenfläche. Dazu wurde die Bedeckung mit Graphen auf einen Kreis mit 100  $\mu\text{m}$  Durchmesser vergrößert. Zusätzlich von Vorteil ist, dass das Graphen dabei eine größere Kontaktfläche mit dem Substrat an der gewünschten Stelle hat und dadurch dort besser adhärirt. Die fertige Elektrode hat wieder einen Durchmesser von 30  $\mu\text{m}$ , da dieser durch die Isolationsschicht definiert wird, was in Abbildung 4.3 durch die kleinen Kreise angedeutet wird. Der Unterschied der beiden Elektrodenkonfigurationen für transparente Elektroden liegt in der Kontaktfläche zwischen der Goldleiterbahn und dem Graphen. Die cMEA-Konfiguration bietet eine relativ große Kontaktfläche, da die Goldleiterbahn in eine c-förmige Fläche endet auf der sich Graphen und Metall überlappen. iMEAs zeichnen sich durch einen kleinen Überlapp zwischen Metallleiterbahn und Graphenschicht aus, da hier die Leiterbahn kurz vor der Elektrode endet und nicht weiter verdickt ist. Das hat den Vorteil, dass weniger Fläche von der Zellkultur verdeckt wird.

In Abbildung 4.5 ist der Prozess für eine transparente Elektrode (iMEA) schematisch dargestellt. Für eine cMEA-Elektrode ist der Ablauf analog. Die nicht gezeigten Teilschritte sind identisch mit Abbildung 4.4.





**Abbildung 4.5.:** Schematische Prozessschritte zur Herstellung einer transparenten Graphenelektrode (iMEA). Die Strukturierung der Leiterbahnen und des Graphens erfolgt analog zu Abbildung 4.4. a) Maskierung der Chipoberfläche. b) Graphentransfer. c) Graphen Lift-off. d) Isolierung der Leiterbahnen.

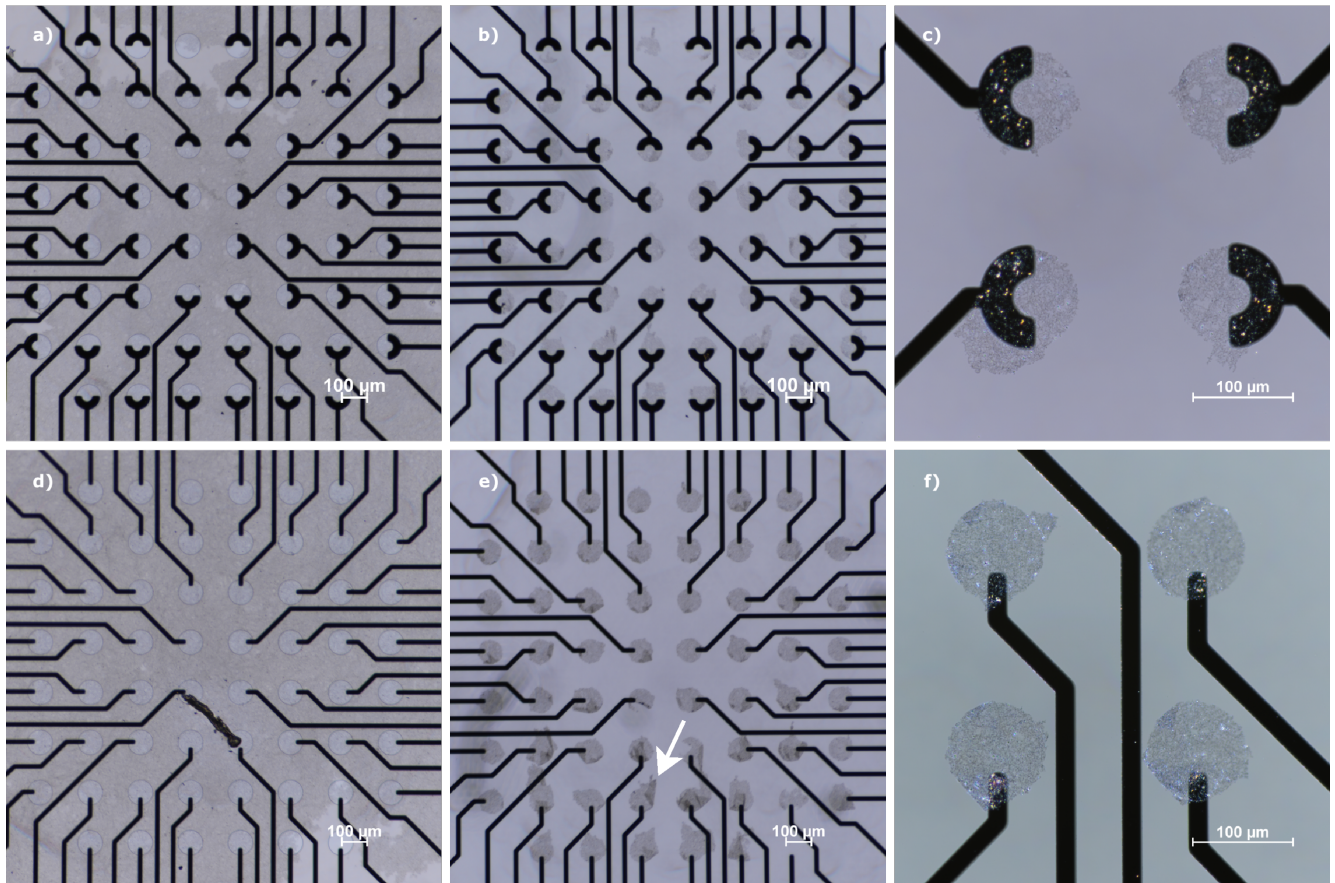
Die unterschiedliche Eigenschaften der beiden Layouts werden vor allem beim Lift-off deutlich. In Abbildung 4.6 sind beide Konfigurationen für transparente Elektroden vor und nach dem Lift-off aber noch vor Aufbringung der Isolation gezeigt. Der Vorteil der cMEAs liegt in der größeren Kontaktfläche zwischen Gold und Graphen und damit einer größeren Toleranz gegenüber Fehlern beim Lift-off. Reißt bei iMEAs an dem kleinen Überlapp die Graphenschicht ab, so ist die Elektrode unbrauchbar, während bei cMEAs ein kleiner Fehler an dieser Stelle die Funktionsfähigkeit der Elektrode nicht beeinflusst. Von anderen möglichen Phänomenen sind beide Konfigurationen gleich häufig betroffen. Dazu zählt, dass sich das Graphen nicht vollständig von der Substratoberfläche löst und die Elektroden kurzgeschlossen bleiben, aber auch, dass sich das Graphen vollständig von der Oberfläche löst und die Elektroden unbedeckt bleiben. Durch Optimierung der Prozessparameter, wie die Wahl eines geeigneten Photolacks, können diese Effekte jedoch im Wesentlichen vermieden werden. Ein weiteres Phänomen sind doppelt bedeckte Elektroden, die dadurch entstehen, dass sich das Graphen beim Lift-off nicht genau entlang der definierten Struktur löst, sondern ein Überstand zurück bleibt, der sich auf der Elektrode anlagert. Der Pfeil in Abbildung 4.6 e) markiert eine solche Stelle. Solange dadurch nicht zwei Elektroden kurzgeschlossen werden, hat dies jedoch keinen Einfluss auf die Funktionsfähigkeit des fertigen Chips. Generell hat sich für transparente Elektroden mehrlagiges Graphen als robuster beim Lift-off erwiesen und ist deswegen für diese Art der Elektroden bevorzugt worden. Zusammenfassend liegt der Vorteil der iMEAs in einem größeren Sichtfeld um die Elektrode herum, da weniger von den Kontaktflächen verdeckt wird, während cMEAs robuster beim Herstellungsprozess sind.

#### 4.3.2 Aufbau- und Verbindungstechnik

In den weiteren Schritten werden mittels Aufbau- und Verbindungstechnik die MEAs für die elektrochemische Charakterisierung und die Zellkultur vorbereitet, indem sie mit einer Leiterplatte verbunden werden, um den Anschluss an die nachfolgende Verstärker- und Messhardware zu ermöglichen. Dazu werden die äußeren Elektroden des Glaschips (Abbildung 4.1 a)) mit Silberleitkleber PC3000<sup>2</sup> beschichtet und mit einem Flip Chip Bonder<sup>3</sup> auf eine vorgefertigte Leiterplatte geklebt. Anschließend wird der

<sup>2</sup> Heraeus, Hanau, Deutschland

<sup>3</sup> Fineplacer Pico, Finetech, Berlin



**Abbildung 4.6.:** Transparente Elektroden vor und nach dem Lift-off-Prozess. a) – c) zeigen cMEAs, d) – f) iMEAs. In der ersten Spalte [a) und d)] ist das Elektrodenfeld vor dem Lift-off gezeigt. In der zweiten Spalte [b) und e)] nach dem Lift-off und in c) und f) sind einzelne Elektroden nach Lift-off vergrößert gezeigt.

Kleber im Ofen bei 100° C ausgehärtet und der noch vorhandene Spalt zwischen Chip und Leiterplatte mit dem Zweikomponentenkleber Polytec EP 630<sup>4</sup> verfüllt. Um die Kavität für die Zellkultur zu erzeugen, werden zwei Glasringe (Innendurchmesser 7 mm und 21 mm) mit Polydimethylsiloxan Sylgard 184<sup>5</sup> (PDMS) auf den Chip geklebt und anschließend der entstandene Zwischenraum ebenfalls mit PDMS befüllt und im Ofen ausgehärtet. Der fertige Chip ist in Abbildung 4.1 b) gezeigt. Weiterführende Details können aus [76] und [113] entnommen werden.

<sup>4</sup> Polytec, Waldbronn, Deutschland

<sup>5</sup> Dow Corning, Wiesbaden, Deutschland

---

## 5 Ergebnisse und Diskussion

Das Ergebniskapitel ist aufgeteilt in die Charakterisierung der Elektrodenmaterialien und die Zellkultur-experimente. In ersterem werden zunächst die Untersuchung der Makroelektroden und anschließend die der Mikroelektroden behandelt. Die Zellexperimente unterteilen sich in neuronale und kardiale Ableitungen sowie eine Untersuchung der Langzeitstabilität verschiedener Elektrodenmaterialien unter den Bedingungen der Zellkultur.

---

### 5.1 Charakterisierung der Elektroden

---

Die Untersuchungen gehen der Frage nach, wie gut sich Graphen als Elektrodenmaterial eignet. Dazu sind Elektroden aus Gold, Gold mit Graphen-Beschichtung und Graphen direkt auf Silizium- und Glas-substrat charakterisiert worden. Zuerst wird die Qualität der Graphenelektroden mit Hilfe von Raman-Spektroskopie beurteilt. Daran schließen sich für die Mikroelektroden weitere Untersuchungen der Oberfläche an. Sowohl die Mikro- als auch die Makroelektroden werden elektrochemisch charakterisiert und die Ergebnisse für alle Materialien miteinander verglichen.

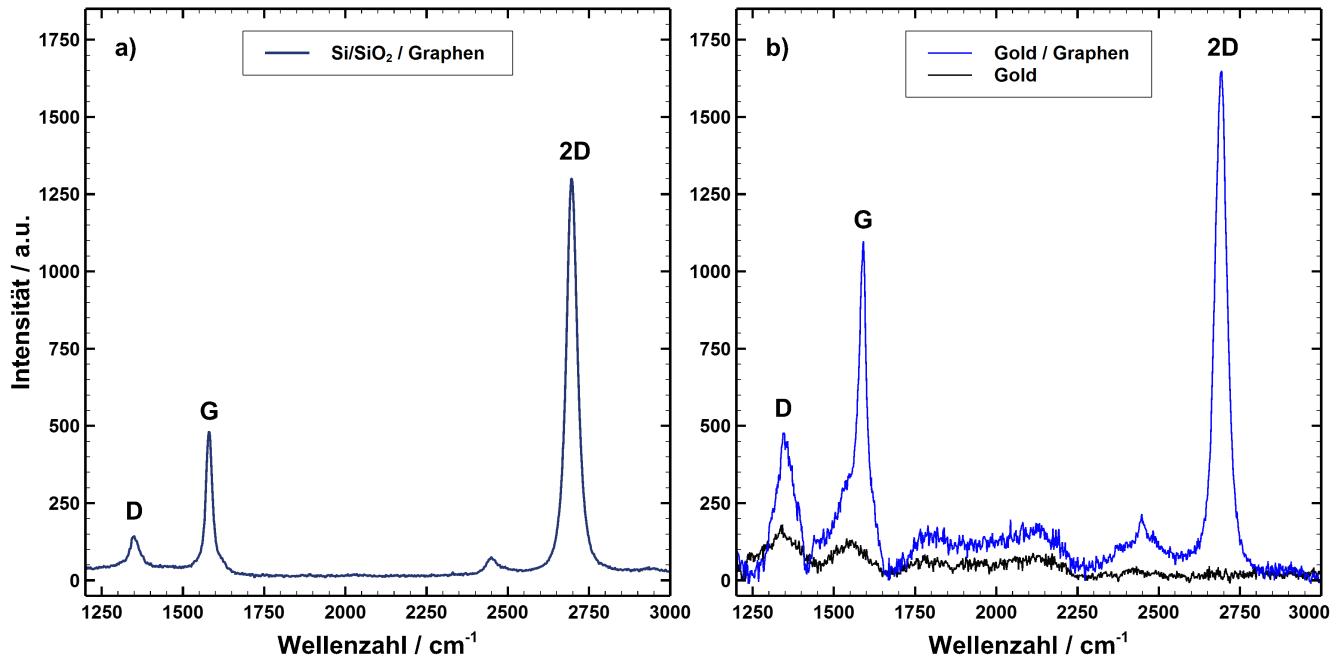
---

#### 5.1.1 Makroelektroden

---

An Makroelektroden ist die Materialcharakterisierung einfach, kann schnell durchgeführt werden und ermöglicht den Vergleich mit Literaturwerten. Dazu sind Makroelektroden mit einer Fläche von  $0,31 \text{ mm}^2$  ( $\hat{=}$   $310\,000 \text{ }\mu\text{m}^2$ ) in den Materialzusammensetzungen Gold, Gold / Graphen und Si/SiO<sub>2</sub> / Graphen untersucht worden. Ein Array aus zusammengeschalteten Mikroelektroden wird dabei als eine Makroelektrode betrachtet. Als Charakterisierungsmethoden sind die Raman-Spektroskopie, Impedanzspektroskopie und Transientenmessungen zum Einsatz gekommen.

Die Raman-Messung zeigt den erfolgreichen Graphen-Transfer auf die Substrate. In Abbildung 5.1 sind Spektren gezeigt, die an mehreren Punkten auf der Probe aufgenommen und gemittelt wurden. Auf Si/SiO<sub>2</sub> zeigt sich das für Graphen typische Spektrum. Das Raman-Spektrum von Gold zeigt keine ausgeprägten Peaks, im Gegensatz zu dem Gold / Graphen-Spektrum, dass die gleichen Maxima wie Graphen auf Si/SiO<sub>2</sub> zeigt, wenn auch mit erhöhter Intensität. Ebenso sind die Verhältnisse der Intensitäten erhöht, insbesondere  $I_G/I_{2D}$ . Die genauen Parameter der Spektren sind in Tabelle 5.1 aufgeführt. Eine Detailbetrachtung der Ergebnisse zeigt, dass die Peakpositionen in guter Übereinstimmung mit den Literaturwerten für SLG sind. Das Verhältnis von  $I_G/I_{2D}$  liegt im Bereich von  $0,4 - 0,7$  und auch das  $\text{FWHM}_{2D}$  von ungefähr  $40 \text{ cm}^{-1}$  ist charakteristisch für eine Graphenlage bei einer Anregungswellenlänge von  $514,5 \text{ nm}$  [165]. Die Werte sind nur für Graphen auf Gold leicht erhöht, was aber auf die Wechselwirkungen mit Gold zurückgeführt werden kann. Gleiches gilt für die Werte von  $I_D/I_G$ , die vor allem bei Si/SiO<sub>2</sub> / Graphen den Literaturwerten für SLG entsprechen. Insgesamt kann man von ein bis zwei Lagen Graphen ausgehen, da alle Werte am oberen Rand des in der Literatur angegebenen Parameterbereichs liegen. Die erhöhten Intensitäten für Gold / Graphen lassen sich mit der Raman-Aktivität von Gold erklären. Es kommt zu Gold-Graphen-Interaktionen im Raman-Spektrum, welche das gemessene Spektrum beeinflussen. Der Effekt ist aus der Literatur bekannt, in der beispielsweise Goldnanopartikel für oberflächenverstärkte Raman-Spektroskopie verwendet werden, um Signale zu verstärken [173, 138].



**Abbildung 5.1.:** Raman-Spektren von Graphen auf unterschiedlichen Substraten. a) Si/SiO<sub>2</sub> / Graphen und b) Gold und Gold / Graphen.

**Tabelle 5.1.:** Parameter der Raman-Messungen für Si/SiO<sub>2</sub> / Graphen und Gold / Graphen.

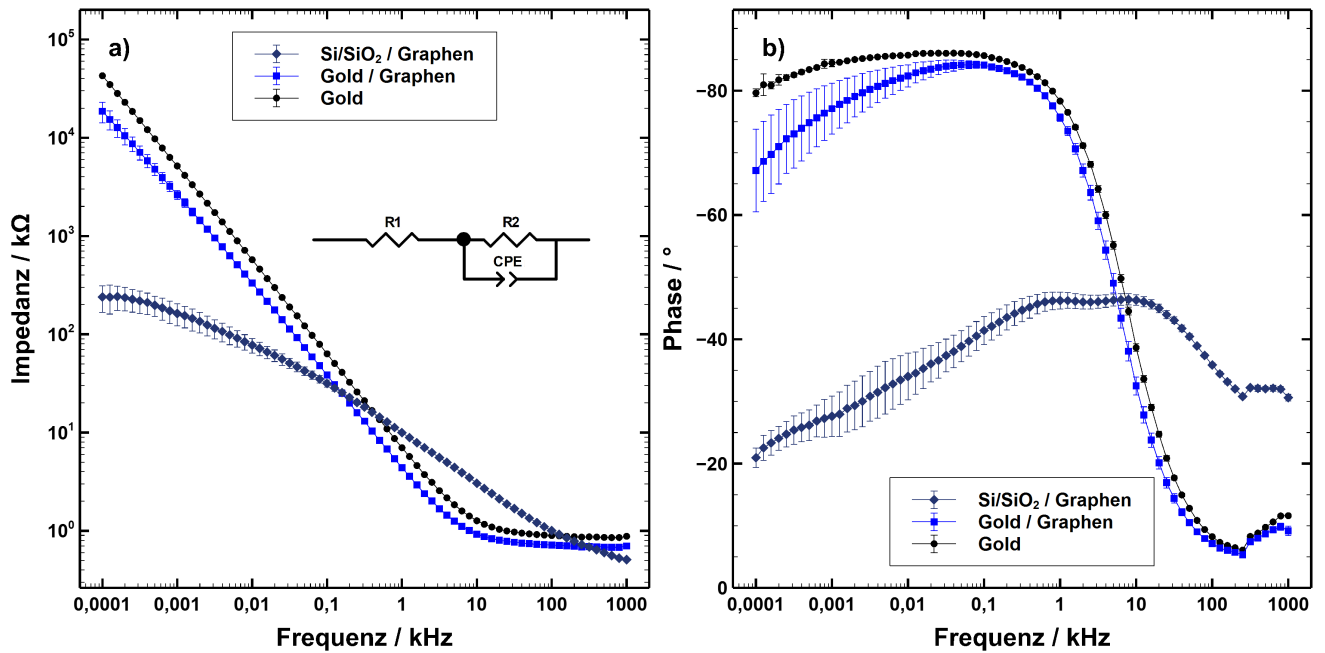
	D / cm <sup>-1</sup>	G / cm <sup>-1</sup>	2D / cm <sup>-1</sup>	FWHM <sub>2D</sub> / cm <sup>-1</sup>	I <sub>D</sub> /I <sub>G</sub>	I <sub>G</sub> /I <sub>2D</sub>
<b>Si/SiO<sub>2</sub> / Graphen</b>	1347	1580	2695	38	0,3	0,4
<b>Gold / Graphen</b>	1347	1591	2694	42	0,4	0,7

Die Spektren der Makroelektroden sind in Abbildung 5.2 für Impedanz und Phase gezeigt. Für die Fits der Spektren wurde das Ersatzschaltbild gewählt, dass diese am Besten beschreibt: Die Schnittstelle wird durch ein Konstantphasenelement mit dem parallelen Widerstand  $R_2$  und dem Widerstand  $R_1$  in Reihe dazu gut modelliert. Das verwendete Ersatzschaltbild ist auch in Abbildung 5.2 a) gezeigt. Die Gesamtimpedanz ergibt sich demnach zu:

$$Z = R_1 + \frac{1}{\frac{1}{R_2} + (i\omega)^\alpha Q_0} \quad (5.1)$$

Obwohl sich die Impedanzwerte bei einer Frequenz von 1 kHz nicht wesentlich unterscheiden, ist der Gesamtverlauf des Impedanzspektrums für Graphen auf Si/SiO<sub>2</sub> deutlich weniger steil. Während Gold-elektroden und Gold / Graphen eine deutliche Eckfrequenz zwischen kapazitiven und resistiven Verhalten bei ungefähr 10 kHz aufweisen, ist bei Si/SiO<sub>2</sub> / Graphen keine Eckfrequenz in dem untersuchten Frequenzbereich feststellbar. Gleichzeitig variiert die Phase nur wenig mit der Frequenz und liegt zwischen  $-20^\circ$  und  $-50^\circ$ . Gold- und Gold / Graphen-Elektroden dagegen haben eine niedrige Phase  $< 10^\circ$  bei sehr hohen Frequenzen, einen starken Anstieg der Phase zwischen 1 kHz und 100 kHz und für kleine Frequenzen einen fast konstanten Wert bei  $-80^\circ$ . Für Gold / Graphen sinkt die Phase zu sehr kleinen Frequenzen wieder etwas ab. Zu hohen Frequenzen dominiert der resistive Anteil und bei kleinen Frequenzen der kapazitive des Konstantphasenelements, was sich mit dem Verlauf des Impedanzspektrums

deckt.



**Abbildung 5.2.:** Impedanzcharakteristik der Makroelektroden unterschiedlicher Materialien: a) Impedanzspektren und b) Phase für Si/SiO<sub>2</sub> / Graphen, Gold / Graphen und Gold. In a) ist zusätzlich das für den Fit verwendete Ersatzschaltbild eingezeichnet.

In Tabelle 5.2 sind die Fitparameter und die Impedanzwerte bei 1 kHz zusammengefasst. Insgesamt hat Gold / Graphen mit 4,4 kΩ die niedrigste Impedanz und Si/SiO<sub>2</sub> / Graphen mit 10 kΩ die höchste. Die Werte von  $R_2$  sind wesentlich größer als die von  $R_1$  und haben eine höhere Schwankungsbreite zwischen den Materialien. Dabei ist der Unterschied zwischen Gold und Gold / Graphen kleiner als der zwischen Si/SiO<sub>2</sub> / Graphen und Gold / Graphen. Insbesondere für Si/SiO<sub>2</sub> / Graphen ist  $\alpha \approx 0,5$ , was einem Warburgelement entspricht und auf eine raue Oberfläche hindeutet, während bei den anderen beiden Materialien  $\alpha \approx 0,9$  ist, und das CPE damit stark einem Kondensator ähnelt. Der sehr kleine Wert für den Durchtrittswiderstand  $R_2$  von 0,3 MΩ deutet auf faradaysche Reaktionen bei Si/SiO<sub>2</sub> / Graphen hin. Zusätzlich unterstützt wird dies durch den Phasenverlauf, der über den gesamten untersuchten Frequenzbereich niedriger als  $-50^\circ$  bleibt.

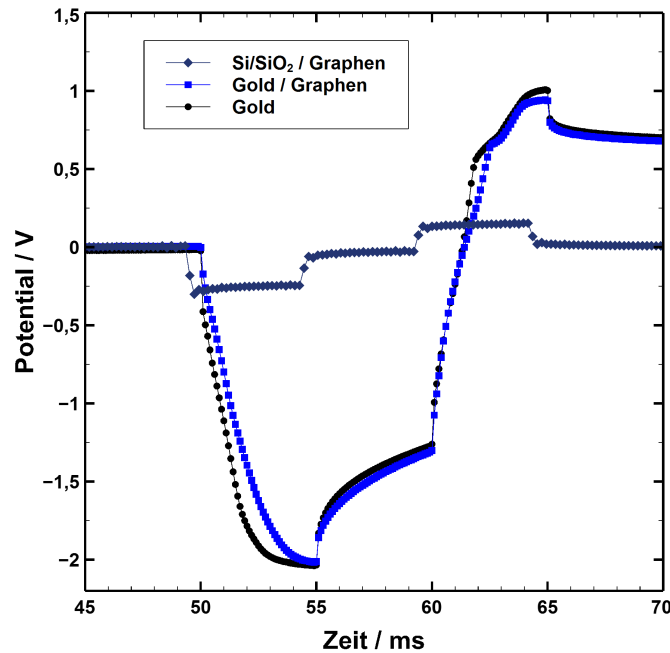
**Tabelle 5.2.:** Angepasste EIS-Daten der Elektrodenmaterialien Si/SiO<sub>2</sub> / Graphen, Gold / Graphen und Gold.

	$ Z  @ 1 \text{ kHz} / \text{k}\Omega$	$R_1 / \Omega$	$R_2 / \text{M}\Omega$	$Q_0 / \text{nSs}^\alpha$	$\alpha$
<b>Gold</b>	$7,0 \pm 0,06$	$906,5 \pm 4,7$	$350,1 \pm 28,0$	$34,3 \pm 0,1$	$0,936 \pm 0,002$
<b>Gold / Graphen</b>	$4,4 \pm 0,1$	$709,7 \pm 7,9$	$54,2 \pm 3,2$	$68,9 \pm 0,7$	$0,925 \pm 0,002$
<b>Si/SiO<sub>2</sub> / Graphen</b>	$10,0 \pm 0,2$	$156,3 \pm 27,3$	$0,3 \pm 0,01$	$1248,7 \pm 41,5$	$0,506 \pm 0,004$

Die Transientenmessungen wurden nur zur qualitativen Beurteilung der Elektroden eingesetzt. Das Ergebnis ist in Abbildung 5.3 gezeigt. Für einen biphasischen, symmetrischen Strompuls von 100 μA Amplitude und 5 ms Länge zeigen die Potentialverläufe der unterschiedlichen Materialien charakteristische Formen. Gold und Gold / Graphen zeigen fast identische Verläufe, während Si/SiO<sub>2</sub> / Graphen erheblich sowohl in der Form als auch in der Amplitude abweicht. Dies lässt darauf schließen, dass der Span-



nungstransient von Gold / Graphen maßgeblich von dem darunterliegenden Gold bestimmt wird. Für einen Strompuls von  $100\ \mu\text{A}$  erreicht der Potentialausschlag von Gold / Graphen und Gold fast  $-2\text{ V}$ , was über dem sicheren Potentialbereich von Gold liegt und zur elektrolytischen Zersetzung von Wasser an der Elektrode führen kann. Der gleiche Puls bei Si/SiO<sub>2</sub> / Graphen bewirkt einen wesentlich geringeren Ausschlag. Das bedeutet, dass Si/SiO<sub>2</sub> / Graphen als Stimulationsmaterial geeigneter ist, da höhere Stromamplituden benutzt werden können ohne den sicheren Potentialbereich zu verlassen.



**Abbildung 5.3.:** Transientenmessung an Si/SiO<sub>2</sub> / Graphen, Gold / Graphen und Gold für einen biphasischen Strompuls mit  $100\ \mu\text{A}$  Amplitude und 5 ms Länge.

Zusammenfassend beeinflusst das Substrat die Eigenschaften des Graphens auf der Oberfläche deutlich. Insbesondere unterliegendes Gold dominiert das Graphen in seinen Eigenschaften. Damit hat Si/SiO<sub>2</sub> / Graphen einen Vorteil gegenüber Gold / Graphen, da hier der Einfluss gering oder gar nicht vorhanden ist. Die Impedanzmessungen zeigen zwar einen erhöhten Impedanzwert bei 1 kHz für Si/SiO<sub>2</sub> / Graphen, allerdings ist die Steigung der Kurve geringer, was einer geringeren Variation der Impedanz mit der Frequenz entspricht und für Messelektroden Vorteile bringt. Auch bei den Transientenmessungen sieht Si/SiO<sub>2</sub> / Graphen vielversprechend aus und ist den anderen Materialien überlegen. Der Fit der Impedanzspektren deutet jedoch auf faradaysche Reaktionen bei Si/SiO<sub>2</sub> / Graphen hin, was auch den Verlauf der Transientenmessungen erklärt. Diese Ergebnisse sind auch in [172] veröffentlicht worden.

Im Vergleich mit den Literaturwerten aus Tabelle 2.1 zeichnen sich die hier untersuchten Makroelektroden durch eine niedrige Impedanz bei 1 kHz aus, was sich durch ihre Fläche erklären lässt. Sie ist mit  $310\,000\ \mu\text{m}^2$  um eine Größenordnung größer als die vergleichbarer Mikroelektroden aus [150].



---

### 5.1.2 Mikroelektroden

---

Die Untersuchung der Makroelektroden erlaubt eine erste erste Einschätzung der Materialcharakteristiken, allerdings lässt sich ihr Verhalten nicht direkt auf Mikroelektroden übertragen. Da für die Messungen von Zellsignalen Mikroelektroden verwendet werden, ist es unumgänglich die Charakterisierung der Materialien auch an Mikroelektroden vorzunehmen. Die untersuchten Mikroelektroden sind kreisförmig mit einem Durchmesser von  $30\text{ }\mu\text{m}$  und damit einer Fläche von  $707\text{ }\mu\text{m}^2$ . Sie sind ebenfalls in verschiedenen Materialkombinationen hergestellt worden. Si/SiO<sub>2</sub> / Graphen-Elektroden sind durch Graphen auf Glas ersetzt worden, da so die Transparenz des Graphens genutzt werden kann. Deswegen werden sie im Weiteren auch als transparente Graphenelektroden oder nur als Graphenelektroden bezeichnet, beziehungsweise je nach Elektrodenkonfiguration als iMEA oder cMEA. Die transparenten Graphenelektroden werden insbesondere mit Gold / Graphen und Goldelektroden verglichen, die beide der oMEA-Konfiguration entsprechen. Zur besseren Einordnung der Ergebnisse sind zudem Werte von konventionellen Elektroden und von CNT-Elektroden zum Vergleich herangezogen worden. Platin<sup>1</sup> und TiN<sup>2</sup> MEAs sind kommerziell erhältliche Produkte, während die CNT-Elektroden von [113, 174] übernommen wurden. Es handelt sich dabei um ungeordnete CNTs, die auf Goldelektroden mit einem Rakelprozess aufgebracht wurden. Die hergestellten Graphenelektroden werden zunächst auf ihre Graphenqualität und ihre Transparenz untersucht. Die elektrochemische Charakterisierung schließt sich an, mit einem detaillierten Vergleich der drei Materialkombinationen Gold, Gold / Graphen und Glas / Graphen. Zusätzlich zu den bei den Makroelektroden angewandten Charakterisierungsmethoden sind die stimulationsrelevanten Eigenschaften der Elektroden genauer untersucht worden, durch Ermittlung der Grenzpotentiale, sowie der CSC und der CIC. Abschließend werden Platin, TiN und CNTs hinzugezogen und alle relevanten Daten in einer Tabelle zusammengefasst und die Unterschiede diskutiert.

---

### Raman-Spektroskopie

---

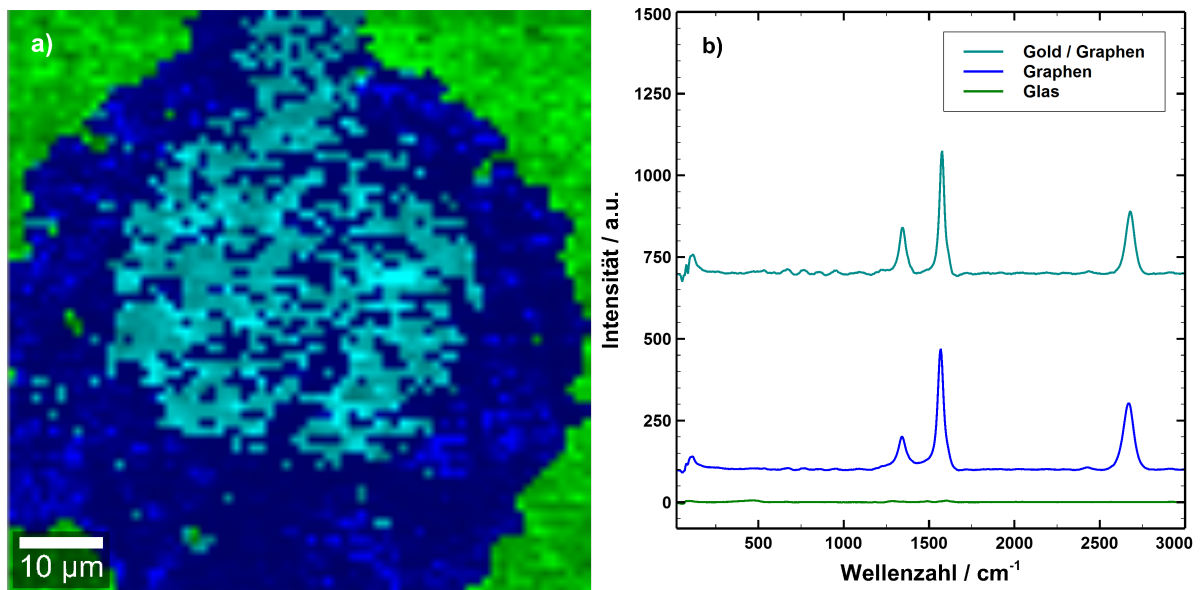
Die Charakterisierung von Graphen-Mikroelektroden erfolgt analog zu den Makroelektroden mittels Raman-Spektroskopie. Im Gegensatz zu den Makroelektroden ist hier ein Raman-Spektrometer mit 2D-Scanfunktion und leicht abweichender Anregungswellenlänge von 532 nm zum Einsatz gekommen. Dies hat den Vorteil, dass Raman-Bilder der Oberfläche aufgenommen werden können und einzelne Bereiche den entsprechenden Spektren zugeordnet werden können. In den daraus resultierenden Falschfarbenbildern sind die einzelnen Materialien gut zu unterscheiden.

In Abbildung 5.4 sind in a) eine 2D-Raman-Aufnahme einer Gold / Graphen-Elektrode und in b) die dazugehörigen Spektren gezeigt. Das Substrat ist Glas, welches hier keine Raman-Aktivität zeigt. Der dunkelblaue Bereich repräsentiert Graphen, was anhand des Spektrums gut zu identifizieren ist. Im Bereich der Goldelektrode ist das Graphensignal durch das unterliegende Gold verändert und zeigt insbesondere leicht erhöhte Intensitätswerte für den D- und G-Peak. Die genauen Peak-Parameter sind in Tabelle 5.3 zusammengefasst. Im Gegensatz zu den Makroelektroden sind die Werte von  $I_G/I_{2D}$  größer als Eins und deuten damit auf mehrlagiges Graphen hin. Die Werte für  $I_D/I_G$  dagegen entsprechen denen der Makroelektroden. Unterschiede ergeben sich für die Positionen der Peaks und der Werte für  $\text{FWHM}_{2D}$ . Erstere sind im Vergleich zu 5.1 leicht zu kleineren Wellenzahlen verschoben. Dies ist mit der Anregungswellenlänge zu begründen, die mit 532 nm etwas größer als im Fall der Makroelektroden ist. Je weniger Energie die Anregungswellenlänge hat, desto mehr sind die Raman-Peaks zu kleineren Wellenlängen hin verschoben [175]. Der  $\text{FWHM}_{2D}$ -Wert ist hier deutlich größer als 40. In Kombination mit einem nicht zu größeren Wellenzahlen verschobenem 2D-Peak, spricht das für turbostratisches FLG.

---

<sup>1</sup> Qwane Biosciences, Lausanne, Schweiz

<sup>2</sup> Multi Channel Systems, Reutlingen, Deutschland



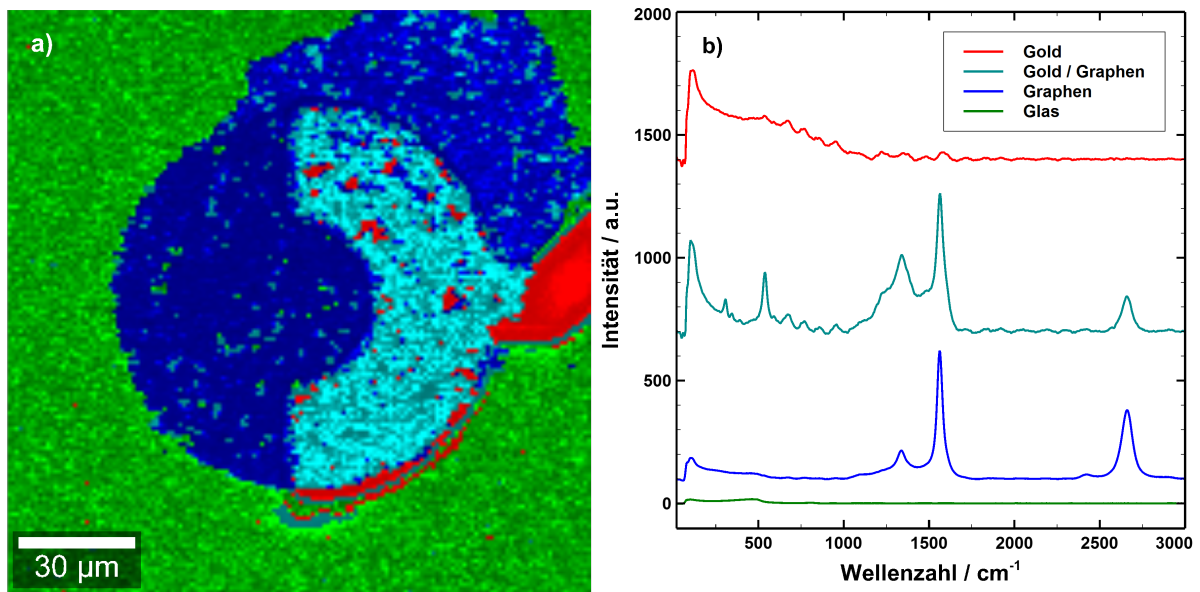
**Abbildung 5.4.:** a) Falschfarbenbild eines 2D-Raman-Scan aufgenommen an einer oMEA-Elektrode. b) Die dazugehörigen Raman-Spektren von Gold / Graphen, Graphen und Glas.

**Tabelle 5.3.:** Parameter der Raman-Messungen an einer oMEA-Elektroden.

	D / cm <sup>-1</sup>	G / cm <sup>-1</sup>	2D / cm <sup>-1</sup>	FWHM <sub>2D</sub> / cm <sup>-1</sup>	I <sub>D</sub> /I <sub>G</sub>	I <sub>G</sub> /I <sub>2D</sub>
<b>Graphen</b>	1339	1569	2670	71	0,3	1,8
<b>Gold / Graphen</b>	1343	1577	2680	62	0,4	2,0

In Abbildung 5.5 a) ist ein 2D-Raman-Scan an einer transparenten Graphenelektrode gezeigt. Da es sich um eine cMEA-Elektrode handelt, ist der Überlapp von Gold und Graphen besonders groß. Auch hier sind die Flächen, die mit Graphen bedeckt sind, blau dargestellt und das Glassubstrat grün. Die zusätzlichen roten Flächen repräsentieren Goldstrukturen. In Abbildung 5.5 b) sind die entsprechenden Spektren gezeigt. Das Spektrum von Gold zeigt ein deutliches Maximum bei 116 cm<sup>-1</sup> und daran anschließend ein abklingende Intensität bis ungefähr 1500 cm<sup>-1</sup>. Ein ähnliches Verhalten zeigt sich auch in der Überlagerung von Gold und Graphen in dem mittleren Spektrum. Hier kommt es zusätzlich zu einer starken Erhöhung und Verbreiterung des D-Peaks, sowie einer Verkleinerung des 2D-Peaks. Die Peak-Parameter sind in Tabelle 5.4 zusammengefasst. Alle Peaks sind leicht zu kleineren Wellenzahlen hin verschoben und die FWHM<sub>2D</sub> ist mit ungefähr 70 cm<sup>-1</sup> zu hoch für SLG. Die Werte für I<sub>D</sub>/I<sub>G</sub> und I<sub>G</sub>/I<sub>2D</sub> sind bei Gold / Graphen erhöht gegenüber den reinen Graphenflächen. Diese Ergebnisse legen ebenfalls turbostratisches FLG nahe, wobei die Verschiebung der Peaks zu kleineren Wellenzahlen im Vergleich zu den Messungen an Makroelektroden auf die Verwendung einer niedrigeren Anregungswellenlänge zurückgeführt werden kann [175]. Unterschiede im G-Peak können an Dotierung des Graphens liegen, da dieser sensitiv darauf reagiert [176].

In Abbildung 5.6 a) ist die iMEA-Konfiguration für transparente Elektroden als 2D-Raman-Scan gezeigt. Analog zu der vorherigen Abbildung ist Gold / Graphen in hellblau gezeigt, während das Graphen auf Glas dunkelblau gefärbt ist und der Substrat-Hintergrund grün. In 5.6 b) sind die korrespondierenden Spektren in den entsprechenden Farben abgebildet. Das Raman-Spektrum von Graphen ist hier wieder überlagert mit dem von Gold, wobei die Intensität der für Graphen typischen Peaks hier im Vergleich



**Abbildung 5.5.:** a) Falschfarbenbild eines 2D-Raman-Scan aufgenommen an einer transparenten Graphenelektrode (cMEA). b) Die dazugehörigen Raman-Spektren von Gold, Gold / Graphen, Graphen und Glas.

**Tabelle 5.4.:** Parameter der Raman-Messungen an einer cMEA-Elektrode.

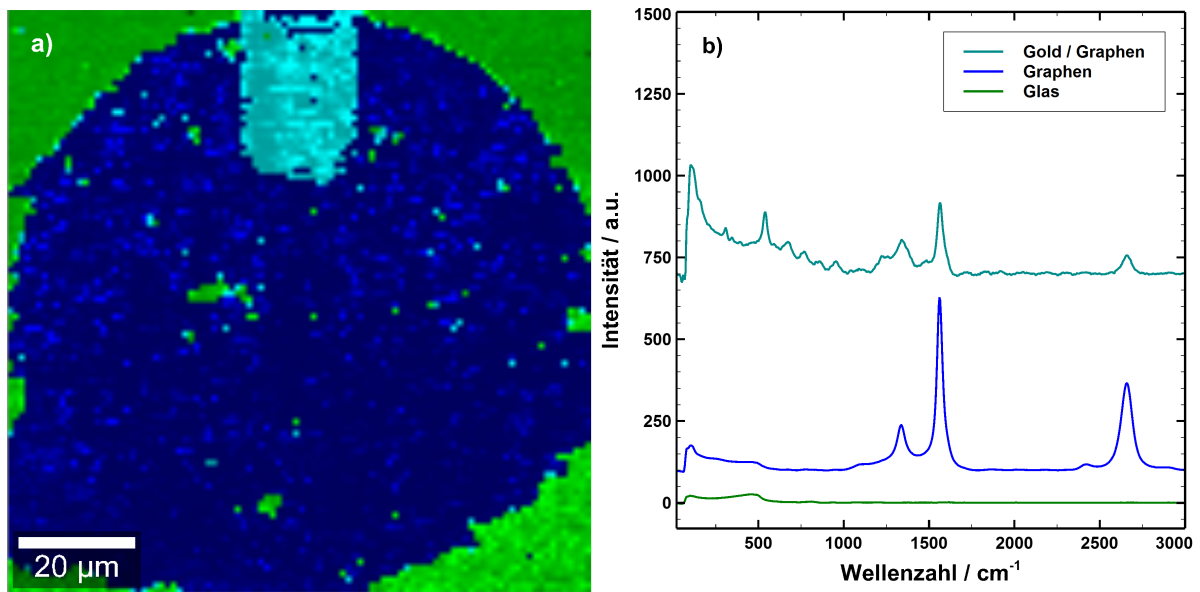
	D / cm <sup>-1</sup>	G / cm <sup>-1</sup>	2D / cm <sup>-1</sup>	FWHM <sub>2D</sub> / cm <sup>-1</sup>	I <sub>D</sub> /I <sub>G</sub>	I <sub>G</sub> /I <sub>2D</sub>
<b>Graphen</b>	1339	1561	2659	74	0,2	1,9
<b>Gold / Graphen</b>	1339	1565	2656	71	0,5	3,9

zu der dunkelblauen Kurve verringert ist. Die Fläche der Elektrode zeigt einen Grund für die Überlagerung mit Gold: Das Graphen ist nicht durchgängig sondern weist Löcher auf, durch die das Substrat zu erkennen ist. In Tabelle 5.5 sind die genauen Parameter der Graphen-Peaks zusammengefasst. Sie sind vergleichbar mit denen aus Tabelle 5.4.

**Tabelle 5.5.:** Parameter der Raman-Messungen an einer iMEA-Elektrode.

	D / cm <sup>-1</sup>	G / cm <sup>-1</sup>	2D / cm <sup>-1</sup>	FWHM <sub>2D</sub> / cm <sup>-1</sup>	I <sub>D</sub> /I <sub>G</sub>	I <sub>G</sub> /I <sub>2D</sub>
<b>Graphen</b>	1335	1560	2659	77	0,3	2,0
<b>Gold / Graphen</b>	1339	1564	2656	66	0,5	3,8

Insgesamt bestätigen die Raman-Messung den erfolgreichen Graphen Lift-off für alle Elektrodenkonfigurationen und zeigen den Einfluss, den das unterliegende Substrat auf die Raman-Spektren hat. Bei dem Graphen handelt es sich um turbostratisches FLG mit einer moderaten Defektdichte. Dies stimmt mit den gewählten Bedingungen bei der Herstellung überein, da für den Lift-off bevorzugt FLG verwendet wurde, um den Prozess robuster zu gestalten, und weil CVD-Graphen generell zu turbostratischem Aufbau tendiert.



**Abbildung 5.6.:** a) Falschfarbenbild eines 2D-Raman-Scan aufgenommen an einer transparenten Graphenelektrode (iMEA). b) Die dazugehörigen Raman-Spektren von Gold / Graphen, Graphen und Glas.

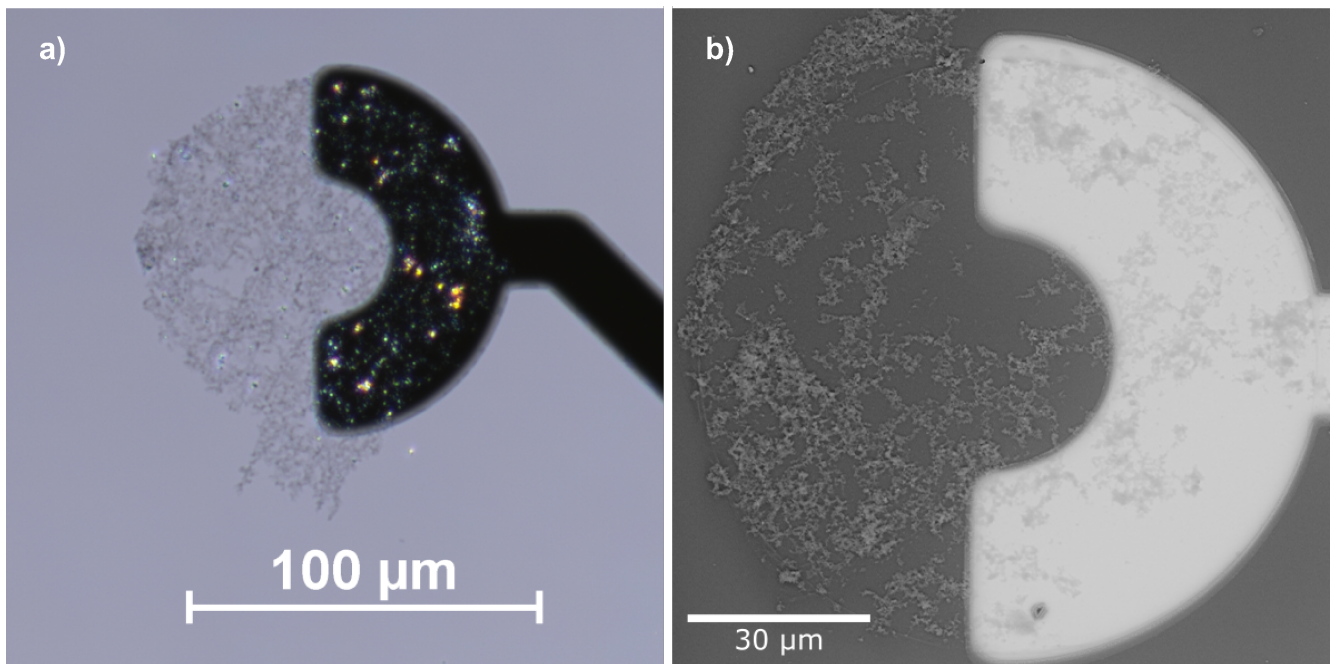
## Andere Methoden

Weitere Untersuchungen der Graphenoberfläche mit bildgebenden Verfahren wie Lichtmikroskopie und REM zeigen, dass die Graphenschicht auch hier leicht vom Substrat abgegrenzt werden kann. Sowohl auf der Lichtmikroskop<sup>3</sup>-Aufnahme in Abbildung 5.7 a) als auch in der REM-Aufnahme in Abbildung 5.7 b) ist das Graphen aufgrund seiner inhomogenen Struktur zu erkennen. Zur Detailanalyse ist die Rauheit der Oberfläche mit AFM-Messungen bestimmt worden. In Abbildung 5.8 sind diese für Glas / Graphen und Gold / Graphen gezeigt. Wie an den Aufnahmen zu erkennen ist, sind die beiden Substrate nicht zu unterscheiden, und in beiden Fällen beträgt die mittlere Oberflächenrauheit  $R_a$  8,6 nm. Die verwendeten Substrate sind mit Werten von 0,7 nm für Glas und 1,4 nm für gesputtertes Gold deutlich glatter. Folglich ergeben sich keine messbaren Einflüsse des jeweiligen Substrats auf die Oberflächenrauheit des darauf transferierten Graphens.

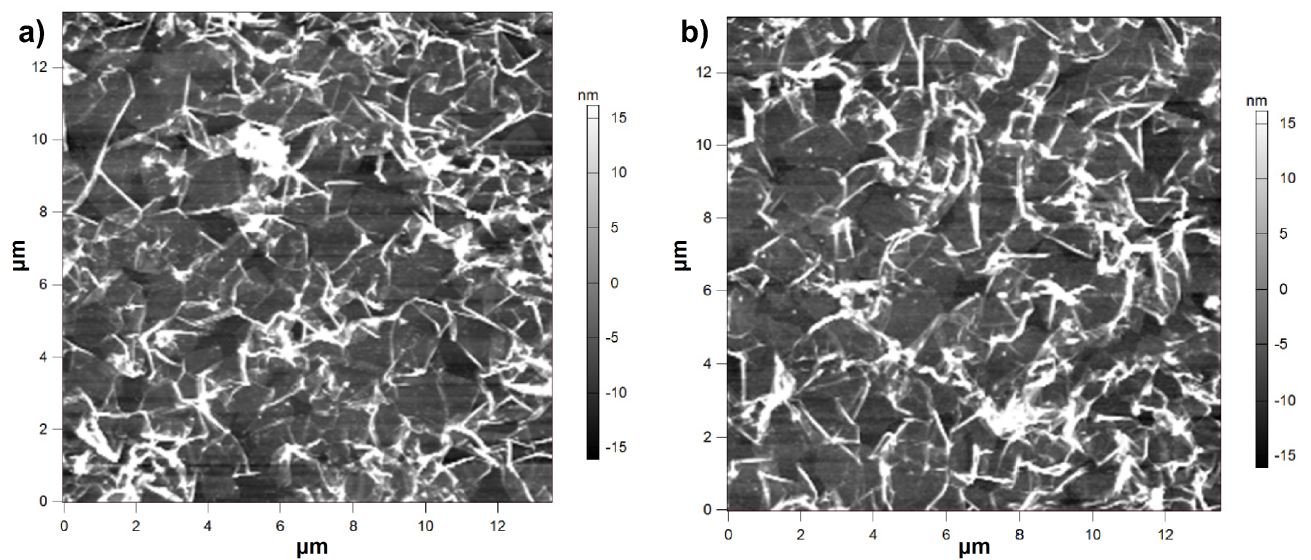
Zur Bestimmung des Transmissionsgrades der transparenten Graphenelektroden sind zusätzlich Transmissionsmessungen an eine Probe bestehend aus einem Mikroskop-Objektträger mit einer darauf transferierten Lage Graphen vorgenommen worden. Zur Referenz wurde die Messung an einem Objektträgerglas ohne Graphen wiederholt. Wie in Abbildung 5.9 gezeigt, ergibt sich für Glas / Graphen eine hohe und konstante Durchlässigkeit von 87 % für sichtbares Licht im Spektralbereich von 350 nm bis 800 nm. Die Glasprobe erreicht eine Transmission von 90 % und die Differenz von 3 % ist die Absorption des Graphens. Dieser Wert liegt nur leicht über der Absorption von SLG von 2,3 % [177]. Für den Einsatz als MEA-Elektrode ist allerdings die kombinierte Transparenz des Systems Glas / Graphen relevant, da das Graphen nicht isoliert betrachtet werden kann. Daher liegt die Transmission einer Graphenelektrode bei ungefähr 87 %. Im Vergleich mit anderen transparenten Elektrodenmaterialien, wie zum Beispiel Indiumzinnoxid, zeigt Graphen sowohl eine höhere als auch eine weniger von der Wellenlänge abhängige Transmission [178].

<sup>3</sup> Eclipse Ni-U, Nikon, Düsseldorf, Deutschland

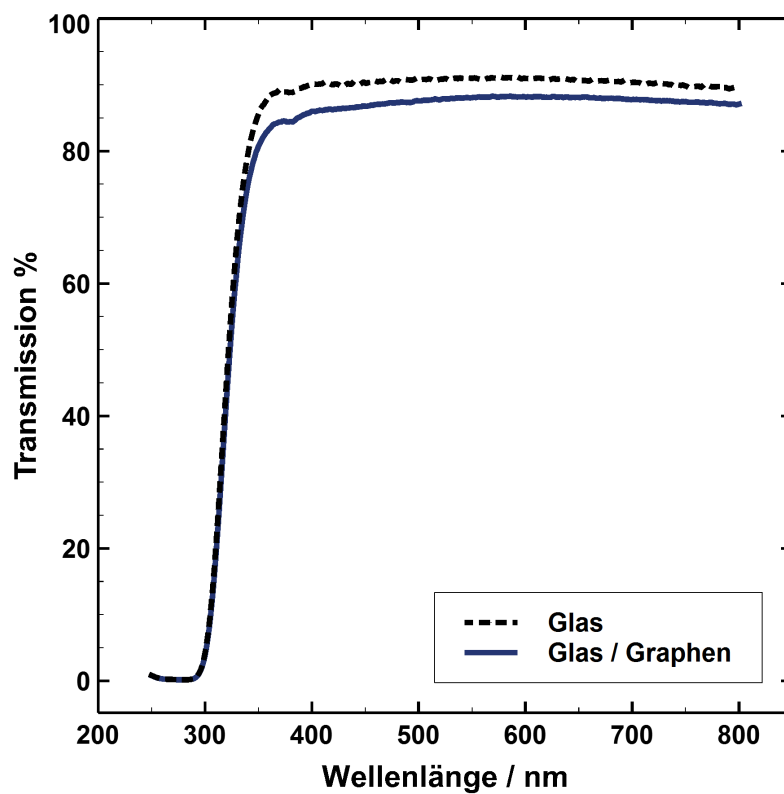




**Abbildung 5.7.:** Eine cMEA-Elektrode a) mit einem Lichtmikroskop und b) mit einem REM aufgenommen.



**Abbildung 5.8.:** AFM-Aufnahmen von a) Graphen auf Glas und b) Graphen auf Gold. Die mittlere Oberflächenrauheit  $R_a$  beträgt in beiden Fällen 8,6 nm.



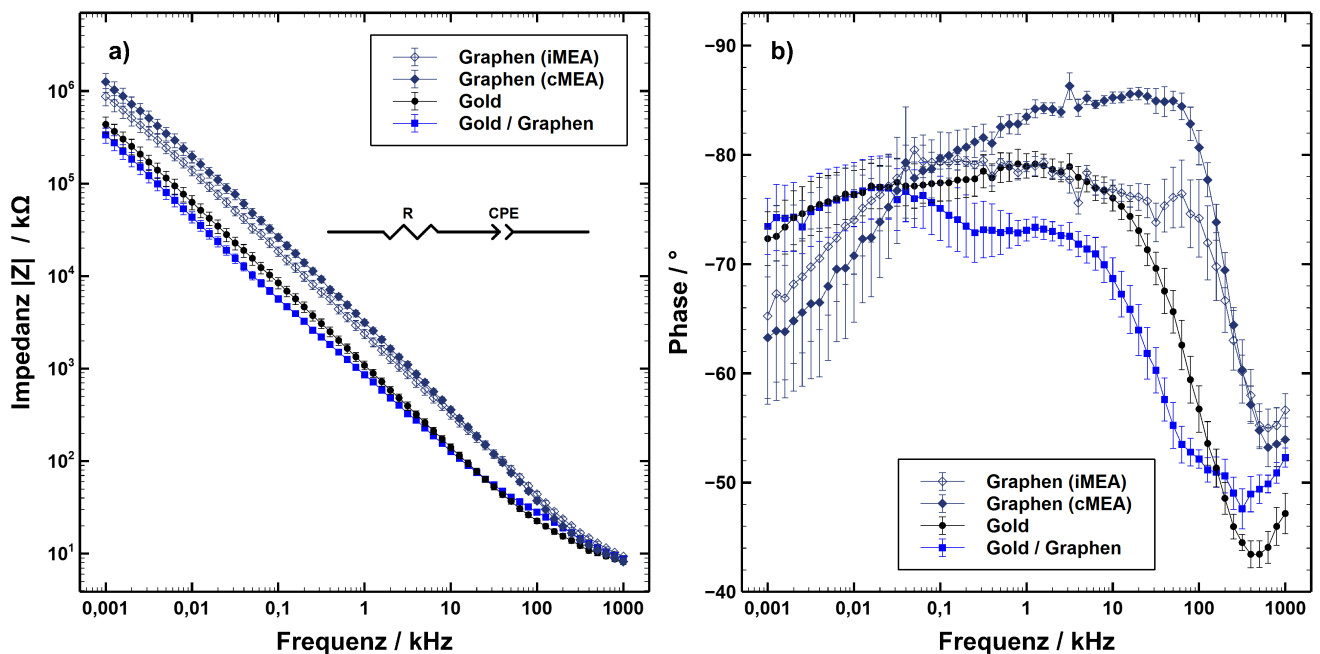
**Abbildung 5.9.:** Transmissionsgrad in Abhängigkeit von der Wellenlänge des eingestrahlt Lichts für Glas und Glas / Graphen. Der Transmissionsgrad ist hoch und über einen Wellenlängenbereich von 350 nm bis 800 nm konstant, was eine hohe Transparenz für sichtbares Licht bedeutet.



Die Impedanz ist eine wichtige Kenngröße für die Funktionsfähigkeit der Elektrode und ist korreliert mit der Höhe des Rauschens und damit dem SNR. In Abbildung 5.10 sind die Impedanzmessungen für die Elektrodenmaterialien Gold, Gold / Graphen und Graphen gezeigt, wobei für Graphen sowohl iMEA als auch cMEA verwendet wurde. Die Frequenzabhängigkeit der Impedanz ist in a) und die der Phase in b) aufgetragen. Für jede Kurve wurden mindestens fünf Mikroelektroden eines Materials gemessen und die Ergebnisse gemittelt. Die Unterschiede zwischen den Materialien zeigen sich in ihren Werten bei 1 kHz. Sie ist für transparente Elektroden am größten mit 2,3 M $\Omega$  für iMEA und 3,1 M $\Omega$  für cMEA. Deutlich darunter liegen Gold mit 1 M $\Omega$  und Gold / Graphen mit 710 k $\Omega$ . Anders als bei den Makroelektroden, unterscheiden sich die Materialien hier im Frequenzverlauf der Phase wenig. Bei niedrigen Frequenzen liegt die Phase zwischen  $-65^\circ$  und  $-80^\circ$  und fällt zu hohen Frequenzen auf ungefähr  $-50^\circ$  ab. Die Fehlerbalken der Phase sind groß, da die Variation in der Phase zwischen einzelnen Mikroelektroden stärker ausgeprägt ist als die der Impedanz. Ebenso fällt auf, dass die Unterschiede zwischen iMEA und cMEA nur schwach ausgeprägt sind. Da zusätzlich der Kurvenverlauf aller Materialien nur wenig voneinander abweicht, entspricht für alle der beste Fit einem Ersatzschaltbild bestehend aus einem Widerstand und einem Konstantphasenelement in Reihe. Damit ergibt sich für  $Z$ :

$$Z = R + \frac{1}{(i\omega)^\alpha Q_0} \quad (5.2)$$

Die Fitparameter sind in Tabelle 5.6 zusammengefasst. Es ergibt sich ein Widerstand  $R$  zwischen 4 k $\Omega$  und 12 k $\Omega$  und ein Konstantphasenelement mit  $\alpha \approx 0,87$  und  $Q_0 \approx 0,1 - 0,7 \text{ nSs}^{0,87}$ . Dies bedeutet, dass in dem betrachteten Frequenzbereich die kapazitiven Eigenschaften der Doppelschicht dominieren und aus dem Phasenverlauf ist zu entnehmen, dass erst bei sehr hohen Frequenzen  $> 100 \text{ kHz}$  resistives Verhalten zum Tragen kommt. Für Stimulation ist dies von Vorteil, da kapazitive Stimulation sicherer ist.



**Abbildung 5.10.:** Impedanzcharakteristik der Mikroelektroden unterschiedlicher Materialien: a) Impedanzspektren und b) Phase für Graphen, Gold und Gold / Graphen.

**Tabelle 5.6.:** Impedanz bei 1 kHz und Parameter des Ersatzschaltbildes.

	$ Z $ @ 1 kHz / $k\Omega$	$R$ / $k\Omega$	$Q_0$ / $nSs^a$	$\alpha$
<b>Graphen (iMEA)</b>	$2370 \pm 310$	$3,67 \pm 0,53$	$0,21 \pm 0,003$	$0,87 \pm 0,001$
<b>Graphen (cMEA)</b>	$3090 \pm 230$	$2,25 \pm 1,12$	$0,11 \pm 0,004$	$0,91 \pm 0,004$
<b>Gold</b>	$990 \pm 90$	$8,33 \pm 0,20$	$0,43 \pm 0,004$	$0,88 \pm 0,01$
<b>Gold / Graphen</b>	$710 \pm 70$	$11,79 \pm 0,62$	$0,74 \pm 0,02$	$0,84 \pm 0,003$

Im Vergleich zu den Makroelektroden ergeben sich hier wesentlich höhere Impedanzwerte, was mit der Flächenabhängigkeit der Impedanz zu erklären ist. Zusätzlich lässt sich ein einfacheres Ersatzschaltbild zur Beschreibung der Kurven heranziehen. Es kommt ohne den Durchtrittswiderstand aus, da die Mikroelektroden bei hohen Frequenzen im gemessenen Frequenzintervall keine Eckfrequenz aufweisen. Das bei den Makroelektroden beobachtete abweichende Verhalten der Si/SiO<sub>2</sub> / Graphen-Elektrode konnte mit transparenten Graphenelektroden nicht reproduziert werden.

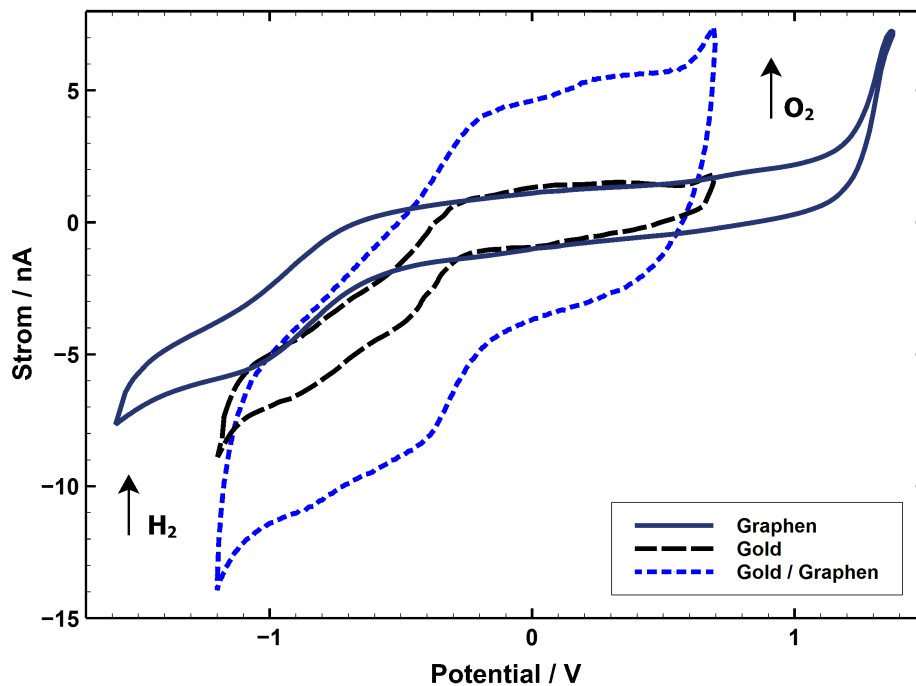
## Zyklovoltammetrie

Wichtige Informationen über das Verhalten von Materialien unter Gleichspannungsbedingungen können mittels Zyklovoltammetrie getestet werden. Hierzu gehört der Zusammenhang zwischen angelegter Spannung und resultierendem Strom und die Bestimmung der Grenzpotentiale. Werden diese Potentiale überschritten, kommt es zur Elektrolyse von Wasser, wobei sich bei negativen Potentialen Wasserstoffgas und bei positiven Sauerstoffgas bildet. Dies stellt auch die Grenzen der Potentialausschläge der Spannungstransienten dar.

In Abbildung 5.11 sind Zyklovoltamogramme für Gold / Graphen-, Gold- und Graphenelektroden gezeigt, die den maximalen Potentialbereich für das jeweilige Material repräsentieren. Er liegt für Gold und Gold / Graphen zwischen  $-1,2V$  und  $0,7V$  und für transparentes Graphen zwischen  $-1,6V$  und  $1,4V$ . Dabei macht es keinen Unterschied, ob iMEA oder cMEA untersucht werden. In beiden Fällen sind Elektroden mit einem etwas kleineren Potentialbereich von  $-1,3V$  bis  $1,1V$  gefunden worden. Der Potentialbereich für Gold / Graphen wird damit vom Goldsubstrat bestimmt, allerdings ist der Abstand zwischen den Kurven für Hin- und Rücklauf um den Faktor drei größer als bei Goldelektroden. Der Abstand zwischen den Kurven wird bei Berechnung der CSC durch die Integration nach Formel 3.2 berücksichtigt. Das führt dazu, dass Gold / Graphen die größte CSC mit im Mittel  $2,26 \text{ mC/cm}^2$  aufweist, während die CSC für Graphenelektroden mit  $1,94 \text{ mC/cm}^2$  zwar größer ist als die von Gold ( $0,80 \text{ mC/cm}^2$ ), aber kleiner als die von Gold / Graphen.

## Transientenmessung

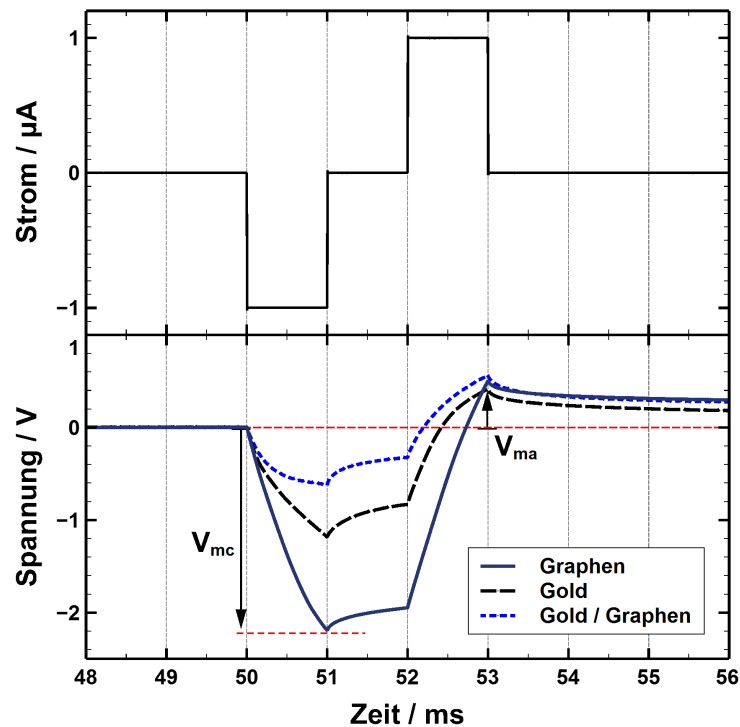
Die Messung von der Spannungstransienten erlaubt es, die Elektroden unter stimulationsähnlichen Bedingungen zu untersuchen. Dafür sind die Elektroden mit kurzen Strompulsen unterschiedlicher Amplituden beaufschlagt worden. Die verwendeten Pulse sind biphasisch, symmetrisch und ladungsausgeglichen und die Amplituden sind je nach Material von  $0,01 \mu A$  bis  $10 \mu A$  variiert worden. Beispielhafte Transientenkurven von Gold / Graphen-, Gold- und Graphenelektroden sind in Abbildung 5.12 gezeigt. Im oberen Teil ist der verwendete Strompuls mit einer Amplitude von  $1 \mu A$  gezeigt. Die erste Phase ist negativ und  $1 \text{ ms}$  lang, gefolgt von einer ebenfalls  $1 \text{ ms}$  langen Pause und abschließend einer genauso langen, aber positiven Phase. Die daraus resultierenden Potentialtransienten an den Elektroden sind darunter gezeigt. Der Verlauf der Transienten ist für alle Elektroden ähnlich, allerdings unterscheiden sich die Amplituden. So erreichen Graphenelektroden einen  $V_{mc}$ -Wert von  $-2,2V$ , während Gold mit  $-1,2V$



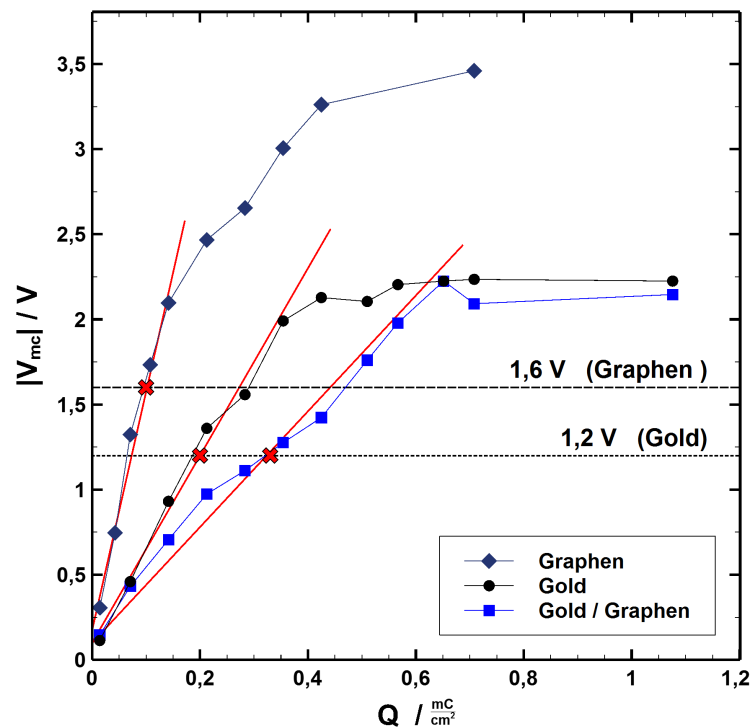
**Abbildung 5.11.:** Zyklovoltammetrie an Gold / Graphen-, Gold- und Graphenelektroden zur Bestimmung der maximalen und minimalen Potentiale. Die Scanrate beträgt in allen Fällen 1 V/s.

und Gold / Graphen mit  $-0,6\text{ V}$  darunter bleiben. Aus den CV-Messungen sind die Potentiallimits bekannt und dürfen für eine sichere Stimulation nicht überschritten werden. In dem hier gezeigten Beispiel ist das für Graphen jedoch der Fall. Für Gold ist hier genau das kathodische Potentiallimit von  $-1,2\text{ V}$  erreicht. Für die anderen Materialien kann durch Messungen mit einer Serie von Pulsen durch schrittweises anheben der Amplitude, diejenige Amplitude ermittelt werden, bei der dieser Wert gerade erreicht wird. Je größer diese maximale Amplitude ist, desto effizienter und sicherer kann mit dem jeweiligen Material stimuliert werden. Aus Abbildung 5.12 kann daher geschlossen werden, dass Gold / Graphen-Elektroden hier am Besten zur Stimulation geeignet sind.

Um den genauen Zahlenwert zu bestimmen wird zur weiteren Auswertung der Transientenmessungen  $V_{mc}$  als Funktion der Ladung  $Q$  aufgetragen, wie in Abbildung 5.13 gezeigt ist. Dabei ergibt sich für kleine  $Q$  ein linearer Verlauf, der bei großen Werten für  $V_{mc}$  in Sättigung geht. Hier ist die Ladung an der Elektrode so groß, dass jede weitere Erhöhung direkt in faradaysche Reaktionen umgesetzt wird. Für Gold- und Gold / Graphen-Elektroden ist dies bei  $-2\text{ V}$  der Fall, für Graphen liegt der Wert erst bei ungefähr  $-3,5\text{ V}$ . Im Bereich des linearen Verlaufs erlaubt ein Fit der Daten die Bestimmung des genauen Schnittpunkts mit den Potentiallimits. Für Gold und Graphen sind in Abbildung 5.13 die Potentiallimits als gestrichelte Linien eingezeichnet und die entsprechenden Schnittpunkte sind markiert. Für Gold / Graphen-Elektroden ergibt sich der höchste CIC-Wert von  $0,3\text{ mC/cm}^2$ . Goldelektroden liegen bei  $0,2\text{ mC/cm}^2$  und Graphenelektroden, trotz höherem Potentiallimit, bei  $0,1\text{ mC/cm}^2$ . Das bedeutet, dass Gold / Graphen-Elektroden auch in diesem Vergleich für die Stimulation am Besten geeignet sind, da sie mehr Ladung als die anderen Elektrodenmaterialien transferieren können, bevor ihr Potentiallimit erreicht ist.



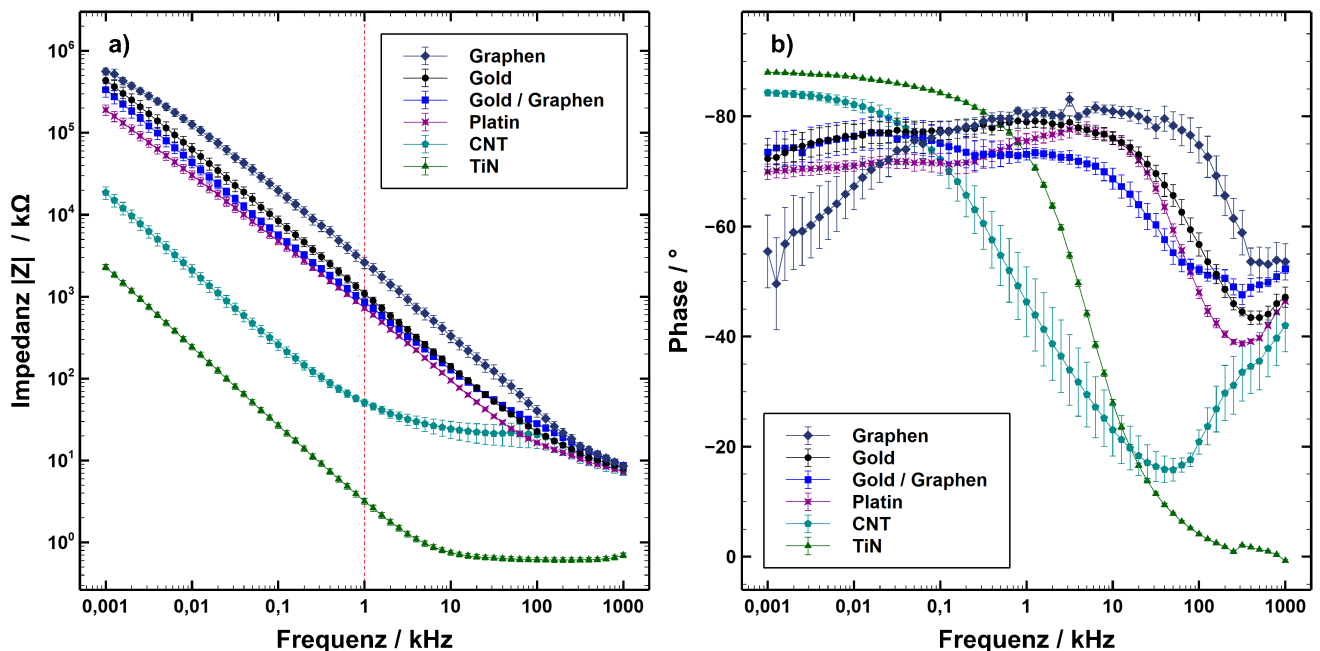
**Abbildung 5.12.:** Beispielhafte Transientenmessung an Gold / Graphen-, Gold- und Graphenelektroden im Vergleich. Oben ist der verwendete Strompuls gezeigt und unten die resultierenden Spannungstransienten. Der minimale Spannungswert  $V_{mc}$  und der maximale  $V_{ma}$  sind hier für die Graphen-Kurve eingezeichnet.



**Abbildung 5.13.:** Auswertung der Transientenmessung an Gold / Graphen-, Gold- und Graphenelektroden. Der Schnittpunkt der linearen Fits mit dem jeweiligen Potentiallimit, hier mit Kreuzen markiert, ergibt die CIC für das entsprechende Material. Der kathodische Potentialausschlag  $V_{mc}$  ist betragsmäßig aufgetragen.

### 5.1.3 Vergleich der Elektrodenmaterialien

Bisher sind nur direkte Vergleiche zwischen Gold-, Gold / Graphen- und Graphenelektroden gezeigt worden. Um die Ergebnisse in einen größeren Zusammenhang zu bringen, sind weitere Elektrodenmaterialien als Referenzen untersucht worden. In Abbildung 5.14 sind für alle gemessenen Materialien die Impedanzkurven und das Phasenverhalten gezeigt. Vor allem der Kurvenverlauf der CNT- und TiN-Elektroden weist deutliche Unterschiede zu den übrigen Materialien auf. Dies kann auf ihre vergrößerte Oberfläche zurückgeführt werden, die ihre Impedanz signifikant beeinflusst und zu einem anderen Frequenzverhalten führt. Auch im Phasenverlauf weichen TiN und CNT-Elektroden von den anderen Materialien ab. Im physiologisch relevanten Frequenzbereich von 1 bis 10 kHz dominiert nur für Graphen, Gold, Platin und Gold / Graphen kapazitives Verhalten. Sie unterscheiden sich auch nicht wesentlich in ihrer Impedanzcharakteristik, sondern vor allem in ihrem Impedanzwert bei 1 kHz. Transparente Graphenelektroden haben hier den größten Wert, gefolgt von Goldelektroden. Platinelektroden und Gold / Graphen-Elektroden unterscheiden sich im Rahmen der Unsicherheiten nicht. Alle Materialien lassen sich gut mit dem einfachen Ersatzschaltbild aus Widerstand und Konstantphasenelement beschreiben und die entsprechenden Werte sind in Tabelle 5.7 zusammengefasst. Der Wert für den Widerstand  $R$  liegt für alle Elektroden im Bereich von 4 k $\Omega$  und 21 k $\Omega$  und zeigt damit keine große Variation. Im Gegensatz dazu variiert  $Q_0$  relativ stark. Als Maß für die Kapazität der elektrochemischen Doppelschicht steigt  $Q_0$  mit größer werdender Elektrodenoberfläche an. Insgesamt zeigen alle Elektrodenmaterialien einen hohen Wert für  $\alpha$  und bestätigen damit das annähernd kapazitive Verhalten. Entgegen der Erwartung, dass TiN-Elektroden aufgrund ihrer großen Oberfläche mit einem niedrigen Exponenten  $\alpha$  des Konstantphasenelements verbunden sind, ist hier der Wert nahe eins, wobei er auch mit einem relativ großem Fehler verbunden ist.



**Abbildung 5.14.:** Impedanzcharakteristik für alle Materialien im Vergleich: a) Impedanzspektren und b) Phase für Graphen, Gold und Gold / Graphen, Platin, CNT und TiN.

**Tabelle 5.7.:** Impedanz bei 1 kHz und Parameter des Ersatzschaltbildes für alle Materialien.

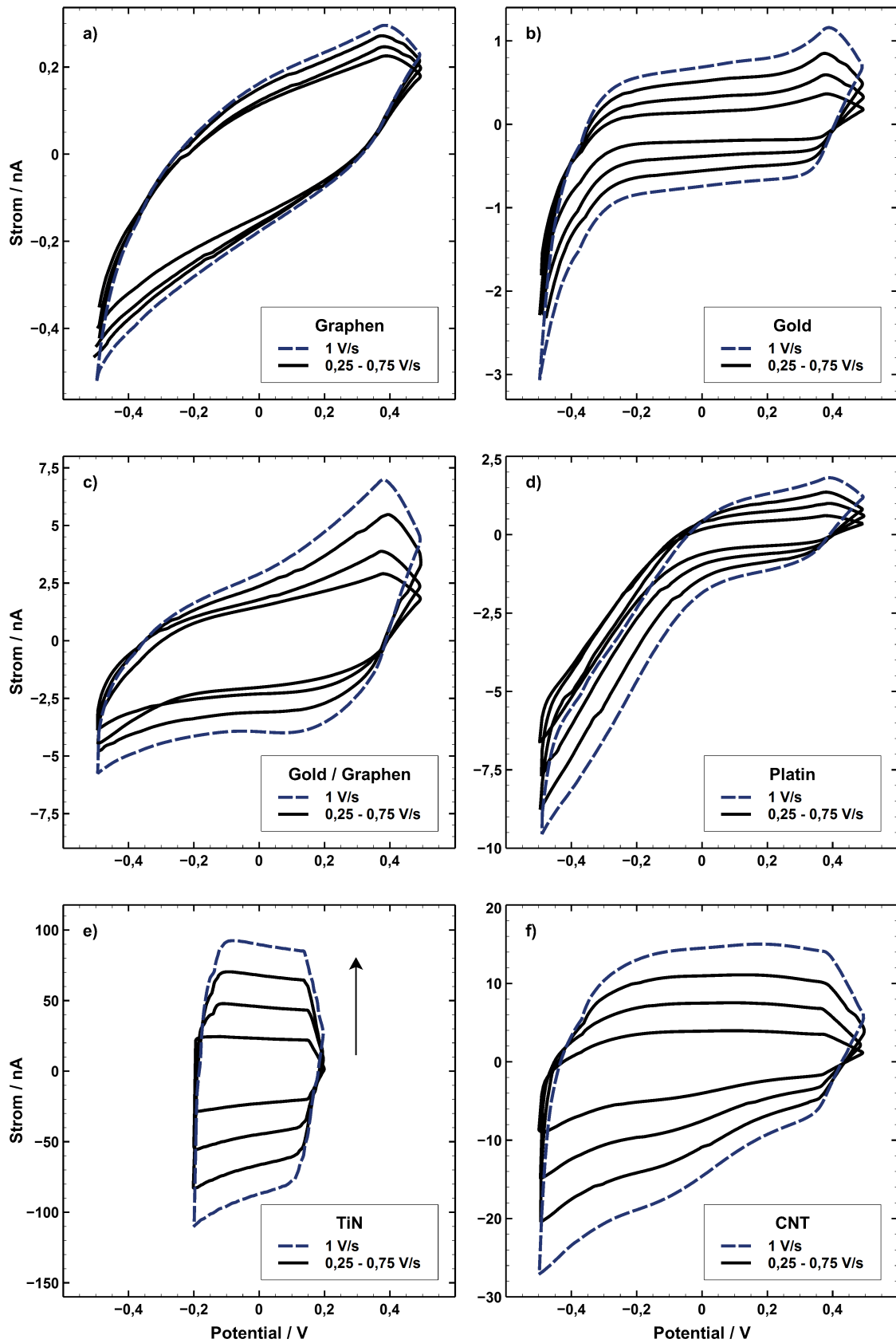
	$ Z $ @ 1 kHz / k $\Omega$	$R$ / k $\Omega$	$Q_0$ / nSs <sup>a</sup>	$\alpha$
<b>Graphen</b>	2370 $\pm$ 310	3,67 $\pm$ 0,53	0,21 $\pm$ 0,003	0,87 $\pm$ 0,001
<b>Gold</b>	990 $\pm$ 90	8,33 $\pm$ 0,20	0,43 $\pm$ 0,004	0,88 $\pm$ 0,01
<b>Gold / Graphen</b>	710 $\pm$ 70	11,79 $\pm$ 0,62	0,74 $\pm$ 0,02	0,84 $\pm$ 0,003
<b>Platin</b>	730 $\pm$ 50	6,87 $\pm$ 0,35	1,03 $\pm$ 0,02	0,83 $\pm$ 0,003
<b>CNT</b>	51,0 $\pm$ 5,5	21,40 $\pm$ 0,73	12,20 $\pm$ 0,65	0,89 $\pm$ 0,01
<b>TiN</b>	3,18 $\pm$ 0,29	0,62 $\pm$ 0,003	78,30 $\pm$ 0,62	0,95 $\pm$ 0,001

Die CV-Kurven für die unterschiedlichen Materialien unterscheiden sich stark, vor allem in der Höhe des gemessenen Stroms. In Abbildung 5.15 ist die Scanratenabhängigkeit der Voltammogramme für alle Elektrodenmaterialien jeweils für Scanraten von 0,25 V/s, 0,5 V/s, 0,75 V/s und 1 V/s aufgetragen. Die höchste ist dabei gestrichelt eingezeichnet und der Pfeil in e) zeigt die Richtung größer werdender Scanraten an. Bis auf TiN sind alle Kurven im Potentialbereich von  $\pm 0,5$  V aufgenommen worden. Da dieser Bereich über das negative Potentiallimit von TiN hinausgehen würde, ist hier ein kleinerer Bereich von  $\pm 0,2$  V gewählt worden.

Transparente Graphenelektroden zeigen hier den geringsten Stromausschlag. Die Scanratenabhängigkeit der Kurven ist gering und der maximale Strom beträgt 0,3 nA. Gleichzeitig zeigt die Kurve eine deutliche Überlagerung von kapazitiven und resistiven Verhalten und es treten keinerlei Reaktionspeaks auf. Goldelektroden dagegen zeigen in einem Bereich von -0,2 V bis 0,3 V ausschließlich kapazitives Verhalten und weichen erst bei Überschreitung dieser Werte davon ab. Der Maximale Strom beträgt hier 1,1 nA und ist damit deutlich größer als bei Graphenelektroden. Die Kombination beider Materialien zu Gold / Graphen-Elektroden erhöht den maximalen Strom deutlich auf 7,0 nA. Die Charakteristiken der beiden vorherigen Kurven überlagern sich hier zu hauptsächlich kapazitiven Verhalten und zeigen auch eine stärkere Scanratenabhängigkeit. Platinelektroden zeigen einen ähnlichen Verlauf wie Goldelektroden, allerdings mit einem stärkeren Ausschlag bei negativen Potentialen und einem etwas größerem maximalen Strom von 1,8 nA. Der Bereich kapazitiven Verhaltens ist hier allein auf positive Potentiale beschränkt. CNT- und TiN-Elektroden zeigen beide hauptsächlich kapazitives Verhalten, unterscheiden sich aber deutlich im maximalen Strom. Er liegt für CNTs bei 9,2 nA und für TiN bei 15,0 nA. Allerdings ist der zugängliche Potentialbereich für CNTs größer als für TiN. Die Scanratenabhängigkeit beider Materialien ist vergleichbar.

Insgesamt zeigen Gold- und Platinelektroden die größten Abweichungen vom rein kapazitiven Verhalten, vor allem bei negativen Potentialen, was auf mögliche Komplikationen durch elektrochemische Reaktionen hinweist. Durch eine Beschichtung mit Graphen kann dies jedoch unterdrückt werden, wie an den Messungen an Gold / Graphen zu sehen ist. Bei transparenten Graphen ist die Impedanz sehr groß, weswegen das resistive Verhalten das Zyklovoltammogramm dominiert. CNT- und TiN-Elektroden zeigen die höchsten Stromwerte und damit die größte Doppelschichtkapazität, was auf ihre Oberflächenstruktur zurück zu führen ist.





**Abbildung 5.15.:** Zyklovoltamogramme für alle Materialien im Vergleich. Zu beachten ist die unterschiedliche Skalierung der y-Achsen. Der Pfeil in e) zeigt die Richtung größer werdender Scanraten an und gilt für alle Abbildungen.

In Tabelle 5.8 sind die Mittelwerte und ihre Standardfehler für die elektrochemische Charakterisierung aller Elektrodenmaterialien zusammengefasst. Die dazugehörigen Details sind im Anhang in Tabelle B.1 aufgeführt. Pro Wert wurden mindestens fünf Mikroelektroden eines MEA-Chips gemessen und die Ergebnisse gemittelt. Von den in dieser Arbeit hergestellten Materialien wurden jeweils mehrere Chips untersucht. Da sich die kommerziell erhältlichen Chips durch eine hohe Reproduzierbarkeit der Werte auszeichnen, sind hier nur die Werte für jeweils einen Chip gezeigt.

**Tabelle 5.8.:** Vergleich der Ergebnisse der elektrochemischen Charakterisierung für alle untersuchten Materialien.

Material	Chip	Impedanz $ Z $ @ 1 kHz / k $\Omega$	CSC / mC/cm <sup>2</sup>	Potential / V	CIC / mC/cm <sup>2</sup>
<b>Graphen</b>	iMEA02	3480 $\pm$ 500	5,36 $\pm$ 1,91	1,4   -1,6	0,13 $\pm$ 0,004
	iMEA05	2740 $\pm$ 250	0,91 $\pm$ 0,14	1,4   -1,6	0,15 $\pm$ 0,05
	iMEA06	2370 $\pm$ 310	1,70 $\pm$ 0,34	1,1   -1,3	0,11 $\pm$ 0,04
	cMEA02	2880 $\pm$ 400	0,49 $\pm$ 0,07	1,1   -1,3	0,09 $\pm$ 0,02
	cMEA03	3090 $\pm$ 230	1,25 $\pm$ 0,35	1,4   -1,6	0,10 $\pm$ 0,007
<b>Gold</b>	AuMEA04	1380 $\pm$ 170	0,73 $\pm$ 0,11	0,7   -1,2	0,16 $\pm$ 0,04
	AuMEA11	990 $\pm$ 90	0,88 $\pm$ 0,15	0,7   -1,2	0,20 $\pm$ 0,007
<b>Gold / Graphen</b>	GrMEA20	630 $\pm$ 70	2,78 $\pm$ 0,40	0,7   -1,2	0,27 $\pm$ 0,009
	GrMEA21	710 $\pm$ 70	1,73 $\pm$ 0,18	0,7   -1,2	0,31 $\pm$ 0,02
<b>Platin</b>	MEA1142	730 $\pm$ 50	0,95 $\pm$ 0,09	0,7   -0,6	0,08 $\pm$ 0,004
<b>CNT</b>	CN064	51,0 $\pm$ 5,5	8,79 $\pm$ 0,93	0,7   -1,0	1,26 $\pm$ 0,03
<b>TiN</b>	MEA18222	3,2 $\pm$ 0,29	31,82 $\pm$ 3,79	1,2   -0,3	2,83 $\pm$ 0,05

Die gemessenen Goldelektroden zeigen Impedanzwerte bei 1 kHz von ungefähr 1180 k $\Omega$ . Transparente Graphenelektroden, sowohl iMEA als auch cMEA, liegen mit ungefähr 2910 k $\Omega$  deutlich darüber. Die Unterschiede zwischen den einzelnen Chips sind dabei größer als die Variationen zwischen iMEA- und cMEA-Elektroden. Gold / Graphen-Elektroden zeigen mit 670 k $\Omega$  ähnliche Impedanzwerte wie Platin mit 730 k $\Omega$ . TiN-Elektroden und CNT-Elektroden haben hier die niedrigsten Werte mit 51,0 k $\Omega$  und 3,2 k $\Omega$ . Die Betrachtung der CSC zeigt, dass hier von den untersuchten Materialien Gold und Platin mit 0,81 mC/cm<sup>2</sup> und 0,95 mC/cm<sup>2</sup> ähnliche Werte zeigen, während sowohl transparente Graphenelektroden als auch Gold / Graphen-Elektroden, mit im Mittel 1,94 mC/cm<sup>2</sup> und 2,26 mC/cm<sup>2</sup>, darüber liegen. Die Streuung der Werte zwischen einzelnen Chips ist dabei vor allem bei den transparenten Graphenelektroden groß. Auch hier zeigen TiN- und CNT-Elektroden deutlich höhere Werte. Für die Grenzpotentiale ergibt sich kein Unterschied zwischen Gold- und Gold / Graphen-Elektroden. Dagegen weisen transparente Graphenelektroden den größten sicheren Potentialbereich auf, auch wenn dieser zwischen den einzelnen Chips um 0,6 V variiert. Für die anderen Materialien ergeben sich deutlich kleinere Potentialbereiche. Insbesondere TiN und Platin weisen eine geringe Toleranz für negative Potentiale auf. Die Grenzpotentiale der CNT-Elektroden entsprechen ungefähr denen von Gold und Gold / Graphen, was damit zusammenhängt, dass auch hier das Basismaterial der Elektrode Gold ist. In diesen Fällen hat das Substrat einen deutlichen Einfluss. Bei allen Materialien ist die CIC niedriger als die CSC. Das hängt damit zusammen, dass für kurze Pulse weniger Elektrodenoberfläche zur Kapazität beiträgt als bei lang-

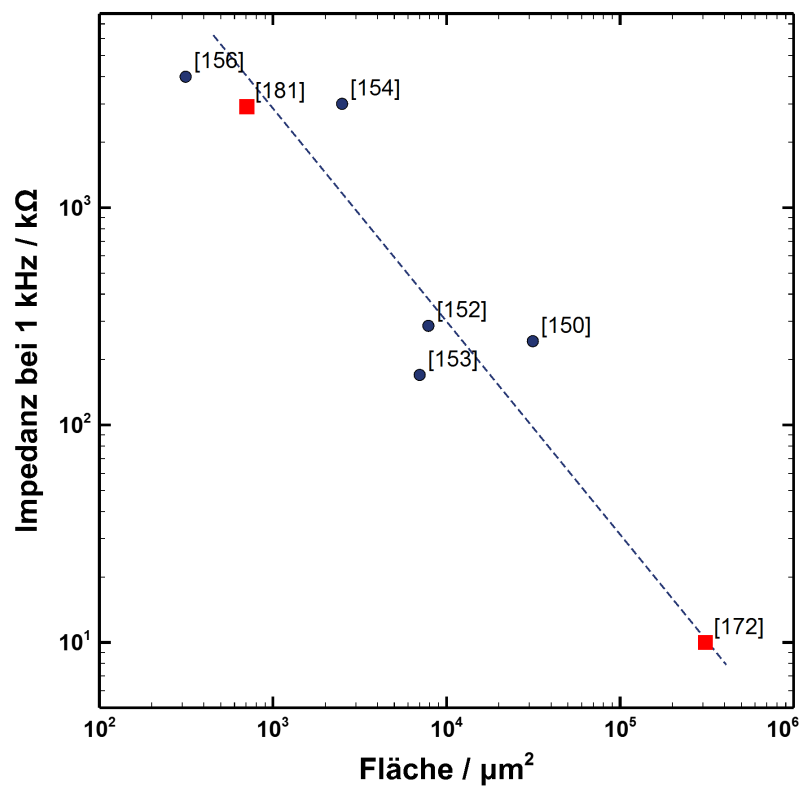
---

samer Aufladung der elektrochemischen Doppelschicht. Besonders groß ist daher der Unterschied bei Elektroden mit großer Oberfläche wie TiN und CNT. Trotzdem weisen diese Materialien relativ hohe CIC Werte größer als  $1 \text{ mC/cm}^2$  auf, gefolgt von Gold / Graphen-Elektroden mit gemittelt  $0,29 \text{ mC/cm}^2$ , Gold mit  $0,18 \text{ mC/cm}^2$  und Graphen mit  $0,12 \text{ mC/cm}^2$ . Platin hat hier den niedrigsten Wert mit  $0,08 \text{ mC/cm}^2$ .

Die CIC Werte für Graphen stimmen mit den in der Literatur gefundenen Werten von  $0,116 - 0,174 \text{ mC/cm}^2$  überein, die allerdings für um den Faktor 11 größere Elektroden bestimmt wurden [152]. Für Gold / Graphen-Elektroden sind keine Literaturwerte zum Vergleich verfügbar. Die CIC-Werte von Gold und Platin und die Grenzpotentiale zeigen eine gute Übereinstimmung mit der Literatur [82]. Für TiN werden in der Literatur sehr unterschiedliche Werte gefunden, so hat die CIC eine Streuung von  $0,9 \text{ mC/cm}^2$  bis zu  $23 \text{ mC/cm}^2$  [86, 74]. Auch die Grenzpotentiale variieren stark [82]. Dagegen stimmt die hier gefundene CIC für CNT-Elektroden mit dem Literaturwert  $1 - 1,6 \text{ mC/cm}^2$  überein [71]. Die benötigte Ladung, um Gewebe überhaupt stimulieren zu können, wird in der Literatur mit  $0,01 - 0,8 \text{ mC/cm}^2$  pro Phase angegeben [179, 180]. Als obere Grenze wird  $1 \text{ mC/cm}^2$  genannt [71]. Grundsätzlich kann daher bei allen untersuchten Materialien davon ausgegangen werden, dass die Stimulation von Zellen möglich ist. Allerdings liegen die CIC-Werte von CNT- und TiN-Elektroden über der physiologisch verträglichen Grenze. Mikroelektroden aus Platin sind dagegen aufgrund ihres sehr kleinen CIC-Wertes und möglichen faradayschen Reaktionen bei negativen Potentialen weniger geeignet. Ebenso sind TiN-Elektroden aufgrund ihrer niedrigen Potentiallimits für die Stimulation nur einschränkt zu verwenden, jedoch sind sie infolge ihrer niedrigen Impedanzwerte gut für die Ableitung von Spikes geeignet.

Ein oft verwendetes Material für transparente Elektroden ist Indiumzinnoxid, daher liegt der Vergleich mit transparenten Graphenelektroden nahe. Bei gleicher Größe der Elektroden beträgt für Indiumzinnoxid die Impedanz bei  $1 \text{ kHz}$   $3,1 \text{ M}\Omega$ . Sie ist damit etwas größer als die transparenter Graphenelektroden. Gleichzeitig liegt der Transmissionsgrad nur bei  $80\%$  und die Transmission zeigt eine deutliche Abhängigkeit von der Wellenlänge, die bei Graphen nicht auftritt [178]. Als transparentes Elektrodenmaterial ist Graphen daher zu bevorzugen.

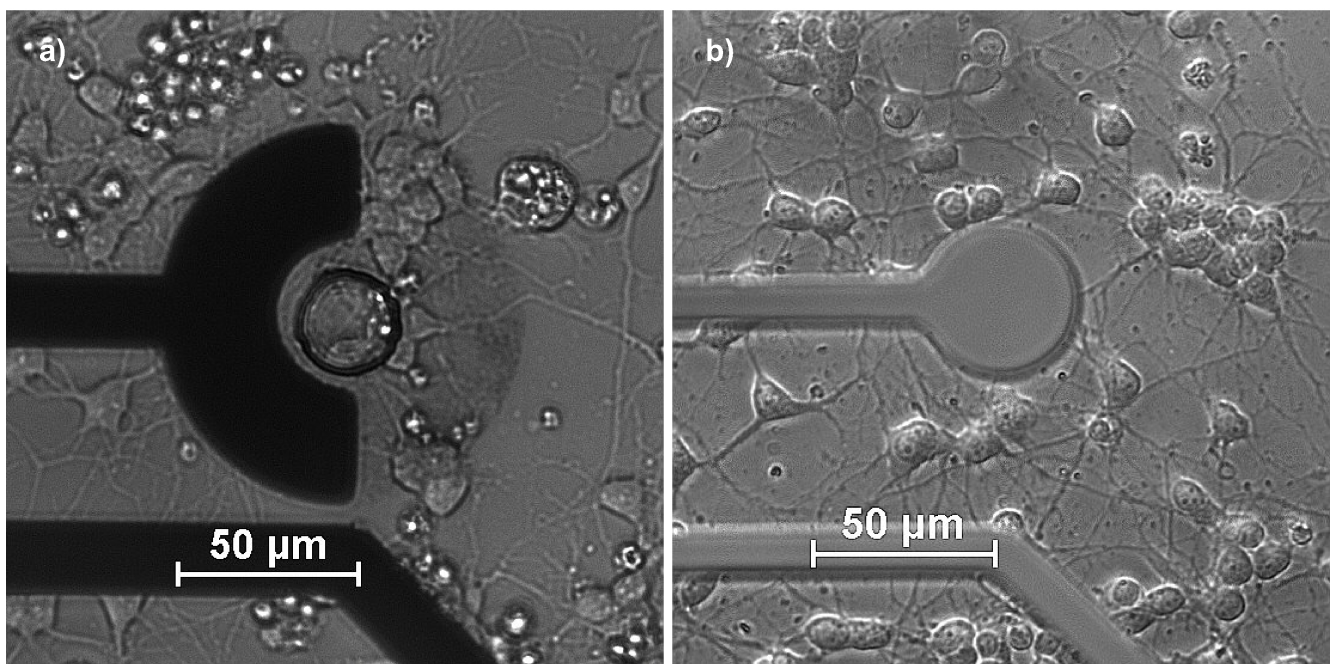
Abschließend sind in Abbildung 5.16 nochmal die Impedanzwerte der Referenzen aus Tabelle 2.1 bei einer Frequenz von  $1 \text{ kHz}$  doppellogarithmisch gegen die Elektrodenfläche aufgetragen, ergänzt um die Werte aus dieser Arbeit. Im Vergleich zu 2.23 wurden die auf Dotierung zurückzuführenden Punkte entfernt. Dadurch lässt sich der antiproportionale Zusammenhang bestätigen und die Flächen-Skala kann nach oben erweitert und im unteren Bereich ergänzt werden.



**Abbildung 5.16.:** Die Impedanz bei 1 kHz doppellogarithmisch aufgetragen gegen die Elektrodenfläche für die Referenzen aus Tabelle 2.1 und die Werten aus dieser Arbeit [172] und [181], die mit roten Quadraten markiert sind. Alle hier eingetragenen Werte sind von Graphenelektroden auf einem nichtmetallischen Substrat. Ein möglicher Fit für die Werte ist mit der gestrichelten Linie angedeutet.

## 5.2 Zellkultur

Die neuronale Zellkultur wurde mit kryokonservierten embryonalen Rattenneuronen<sup>4</sup> aus dem Kortex durchgeführt. Vor der Aussaat wurden die MEA-Chips gereinigt, sterilisiert und anschließend mit Polyethylenimin<sup>5</sup> (PEI) und Laminin<sup>4</sup> beschichtet. Die Neurone wurden mit einer Dichte von 2600 Zellen/mm<sup>2</sup>, was 125.000 Zellen pro MEA-Chip entspricht, auf die Chips ausgesät und anschließend bei 37° C und 5 % CO<sub>2</sub>-Atmosphäre kultiviert. Der Medienwechsel erfolgte alle zwei bis drei Tage. Nach 14 Tagen *in vitro* (div, days *in vitro*) hatte sich ein Netzwerk auf den Chips ausgebildet und die ersten Signale konnten gemessen werden. Die Messungen wurden mit dem Vorverstärker MEA1060<sup>6</sup> vorgenommen und die Datenaufzeichnung erfolgte mit einem auf LabView<sup>7</sup> basierenden Programm und einer Abtastrate von 8 kHz. Anschließend wurden die Daten mit DrCell, einer in Matlab<sup>8</sup> programmierten Analysesoftware, weiterverarbeitet und ausgewertet [111].



**Abbildung 5.17.:** Netzwerke kortikaler Rattenneurone an 3 div mit verschiedenen Elektrodenkonfigurationen. In a) ist das Netzwerk direkt auf der Graphen cMEA-Elektrode zu erkennen. Hier liegen zwei bis drei Zellen mit ihren Somata auf der aktiven Elektrodenfläche. b) Gold / Graphen-Elektrode (oMEA) mit gut entwickeltem Netzwerk, wobei nicht erkennbar ist, ob Zellen direkt auf der Elektrode wachsen.

In Abbildung 5.17 sind vernetzte neuronale Zellen an 3 div auf zwei verschiedenen Elektrodenkonfigurationen gezeigt: In a) der cMEA-Chip mit transparenter Elektrodenfläche aus Graphen und in b) ein Gold / Graphen oMEA-Chip. Auf beiden Chips sind adhärenente und gut vernetzte Neurone zu erkennen. Der Vorteil der transparenten Elektrode ist klar ersichtlich: Die Zellen direkt auf der Elektrode sind eindeutig zu erkennen und ermöglichen eine Aussage über die Anzahl der Zellen auf der Elektrode und die signalerzeugende Struktur, beispielsweise Soma oder Neurite. In dem hier gezeigten Fall befindet sich eine Zelle mit ihrem Soma direkt auf der Elektrode und ein bis zwei weitere mit einem Teil ihrer

<sup>4</sup> Life Technologies, Carlsbad, USA

<sup>5</sup> Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland

<sup>6</sup> Multi Channel Systems, Reutlingen, Deutschland

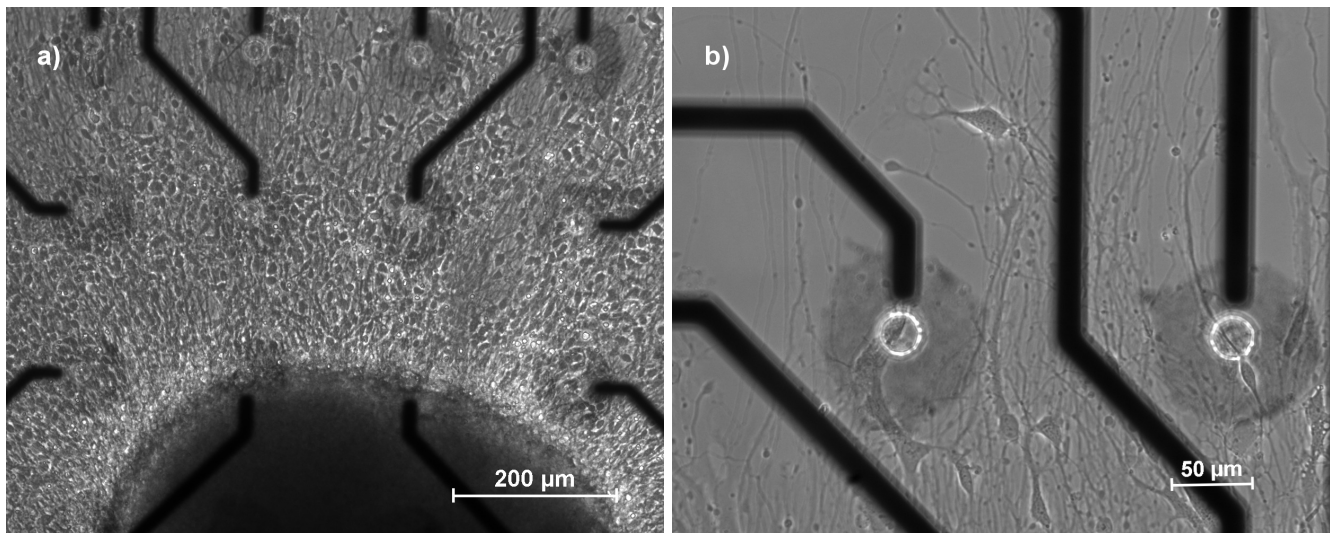
<sup>7</sup> National Instruments, Austin, USA

<sup>8</sup> The MathWorks Corporation, Natick, USA



Somata. Zusätzlich verläuft mindestens ein Neurit über das Elektrodenfeld. Diese Unterscheidung ist bei den Gold / Graphen-Elektroden nicht möglich. Hier kann nur vermutet werden, dass sich einige Neurite auf der Elektrode befinden.

Ein weiteres Beispiel für den Vorteil der transparenten Elektroden ist in Abbildung 5.18 gezeigt. Hier wurde ein neuronales 3D-Modell auf einem iMEA-Chip mit transparenten Elektroden kultiviert. In a) ist es im unteren Bildteil zu erkennen. Ausgehend davon wachsen neuronale Zellen flächig auf den Rest des Chips aus und bedecken die Elektroden vollständig. In b) ist ein Ausschnitt vom Rand des Elektroden Arrays abgebildet, wo die Besiedlung mit Zellen weniger stark ist. Hier kann der Bewuchs der Elektroden gut beobachtet werden. Auf der rechten Elektrode ist beispielsweise ein Neurit deutlich zu erkennen. Auf der linken Elektrode hat sich eine größere Struktur gebildet, die aus mehreren Zellkörpern besteht.



**Abbildung 5.18.:** Transparente Graphenelektroden eines iMEA mit neuronalem 3D-Modell an 7 div. In a) ist ein Ausschnitt von 12 Elektroden des Arrays gezeigt, auf dem die Neurosphäre im unteren Bildteil und die auswachsenden Zellen zu erkennen sind. b) zeigt zwei Elektroden am Rand des Arrays, die weniger dicht bewachsen sind und deswegen die Identifizierung von einzelnen Zellkörpern und Neuriten auf der Elektrode erlauben.

### 5.2.1 Neuronale Ableitungen

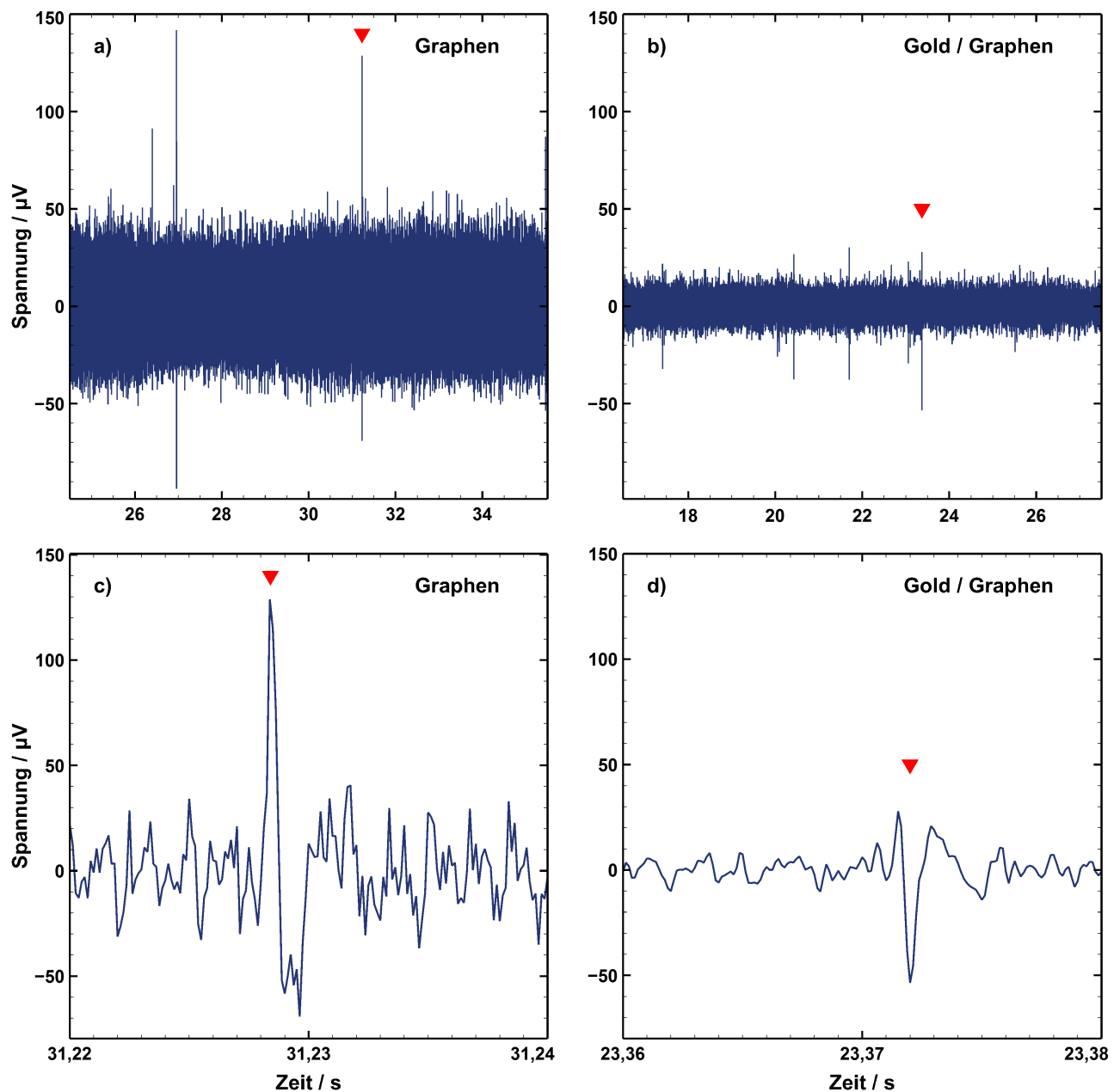
Nach der Aufnahme werden die Signale mit einem Hochpass gefiltert, um das Netzrauschen und andere Störquellen zu minimieren. Mit DrCell erfolgt anschließend die Detektion der Spikes durch Festlegung eines Schwellwertes und Berechnung aller darüber hinaus gehender Amplituden. Das Signal-Rausch-Verhältnis wird dabei mit Formel 2.18 aus der Standardabweichung des Rauschens und der mittleren Signalamplitude bestimmt. In Abbildung 5.19 sind beispielhaft neuronale Ableitungen von transparenten Graphenelektroden und Gold / Graphen-Elektroden gezeigt. Die Aufnahmen wurden für alle Chips bei ungefähr 20 div aufgezeichnet. Obwohl die ersten Signale nach 14 div zu sehen sind, konnten erst ab 21 div reproduzierbar Signale gemessen werden. Transparente Graphenelektroden zeigen höhere Signalamplituden für die spontanen Signale aber auch ein höheres Rauschen als Gold / Graphen-Elektroden. Der Pfeil markiert jeweils einen Spike, der im unteren Bild vergrößert dargestellt ist. Sie unterscheiden sich bei den beiden Chips sowohl in ihrer Form als auch in ihrer Amplitude, jedoch kann die Spikeform selbst innerhalb einer Kultur stark variieren, je nachdem welcher Teil der Zelle gemessen wird [182, 183].



In Tabelle 5.9 sind die Ergebnisse der Messungen zusammengefasst. Die Gold / Graphen-Elektroden zeigen insgesamt ein niedriges Rauschen und je nach Signalstärke der Spikes ergibt dies ein SNR von 71 – 114. Das Rauschsignal der Graphenelektroden ist erheblich größer, weswegen nur während eines Zellexperiments Signale gemessen werden konnten. Hier ergibt sich ein SNR von 49,4 für iMEA und 24,7 für cMEA. Im Vergleich zu planarem Gold schneiden beide Elektrodenmaterialien gut ab. Gold hat ein SNR von 11,5 mit einem Rauschsignal von 16  $\mu\text{V}$  und einer Signalamplitude von 60  $\mu\text{V}$  und ist damit schlechter als Graphen, insbesondere wenn beachtet wird, dass in diesem Fall die maximale Signalamplitude zur Berechnung verwendet wurde [113]. Sowohl mit iMEA- als auch mit cMEA-Elektroden können Signale gemessen werden, wobei Gold / Graphen-Elektroden aufgrund ihres niedrigen Rauschens eine bessere Reproduzierbarkeit aufwiesen. Die Transparenz und damit die direkte Kontrolle über die Zellen auf der Elektrode ist jedoch ein eindeutiger Vorzug der transparenten Graphenelektroden.

**Tabelle 5.9.:** Zusammenfassung der Ergebnisse der neuronalen Ableitungen.

Material	Aussaat	Messung an div	Rauschen $\sigma / \mu\text{V}$	Mittlere Signal- amplitude / $\mu\text{V}$	SNR
Gold / Graphen	22.04.2016	20	3,5	37,0	114,0
Gold / Graphen	14.02.2018	21	3,1	25,9	70,9
Graphen (iMEA)	11.04.2018	22	14,5	102,0	49,4
Graphen (iMEA)	11.04.2018	22	11,2	75,4	45,4
Graphen (cMEA)	11.04.2018	27	25,5	216,9	24,7



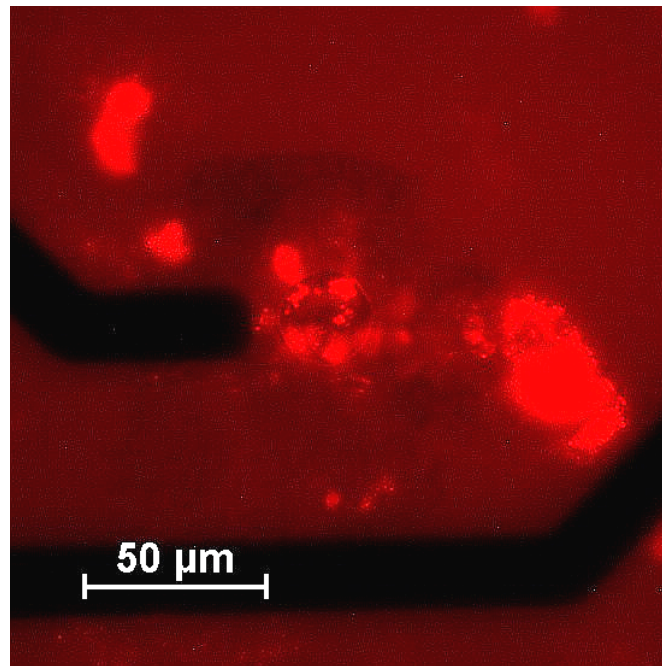
**Abbildung 5.19.:** Extrazelluläre Ableitung kortikaler Rattenneurone mit Graphen- und Gold / Graphen-Elektroden. a) und b) zeigen jeweils einen Ausschnitt der Aufnahme von 11 s, in dem spontan Spikes auftreten: In a) von einer transparenten Graphenelektrode an 22 div und in b) von einer Gold / Graphen-Elektrode an 21 div. Der rote Pfeil markiert den ausgewählten und im jeweiligen unteren Bild auf einen Ausschnitt von 0,02 s vergrößerten Spike: c) Spike einer transparenten Graphenelektrode und d) Spike einer Gold / Graphen-Elektrode.

---

### 5.2.2 Kardiale Ableitungen

---

Für Versuche mit humanen Kardiomyozyten wurden kryokonservierte Zellen iCell Cardiomyocytes<sup>9</sup> verwendet, die aus humanen induzierten pluripotenten Stammzellen (hiPSC) differenziert wurden. Vor der Zellaussaat wurden die MEA-Chips gereinigt und mit Fibronektin<sup>10</sup>-Lösung beschichtet. Die Aussaat erfolgte mit 80.000 Zellen pro Chip. Nachfolgend erfolgte alle zwei Tage ein vollständiger Medienwechsel. Mit dem Vorverstärker MEA1060 konnten nach 48 Stunden die ersten Signale aufgenommen werden. Insgesamt wurden zwei Aussaaten durchgeführt.



**Abbildung 5.20.:** Netzwerk von fluoreszierenden hiPSC-Kardiomyozyten auf einer transparenten Graphenelektrode (iMEA).

In Abbildung 5.20 ist eine Aufnahme mit einem Fluoreszenzmikroskop<sup>11</sup> von hiPSC-Kardiomyozyten gezeigt. Die Zellen fluoreszieren von sich aus und mussten dafür nicht gefärbt werden. Durch das transparente Elektrodenfeld des iMEAs sind die Zellen direkt auf der Elektrode und in ihrer unmittelbaren Umgebung gut zu erkennen.

Mit allen Chips konnten verlässlich Zellsignale gemessen werden, die sich allerdings in ihrem SNR unterscheiden. In Abbildung 5.21 werden Signale von zwei verschiedenen Chips gegenübergestellt. Wie bei den neuronalen Zellen zeigen die transparenten Graphenelektroden mit 181,1  $\mu\text{V}$  höhere Signalamplituden und gleichzeitig auch ein höheres Rauschen von 14,6  $\mu\text{V}$  im Vergleich zu den Gold / Graphen-Elektroden. Die mittleren Signalamplituden und die Standardabweichungen des Rauschsignals sind für beide Materialien in Tabelle 5.10 zusammengefasst. Zusätzlich ist für die Kardiomyozyten noch die Schlagrate aufgeführt, da sie einen wichtigen elektrophysiologischen Parameter darstellt.

Die für Kardiomyozyten typischen hohen Signalamplituden sind vor allem bei der Aussaat vom 08.12.2017 gemessen worden. Aufgrund dessen ergibt sich für die Gold / Graphen-Elektroden ein SNR von 4608,6. Bei der zweiten Aussaat am 21.02.2018 sind die Signalamplituden generell um mindestens einen Faktor 25 niedriger. Allerdings lassen sich in diesem Experiment die unterschiedlichen Elektroden-

---

<sup>9</sup> Cellular Dynamics International, Madison, USA

<sup>10</sup> Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland

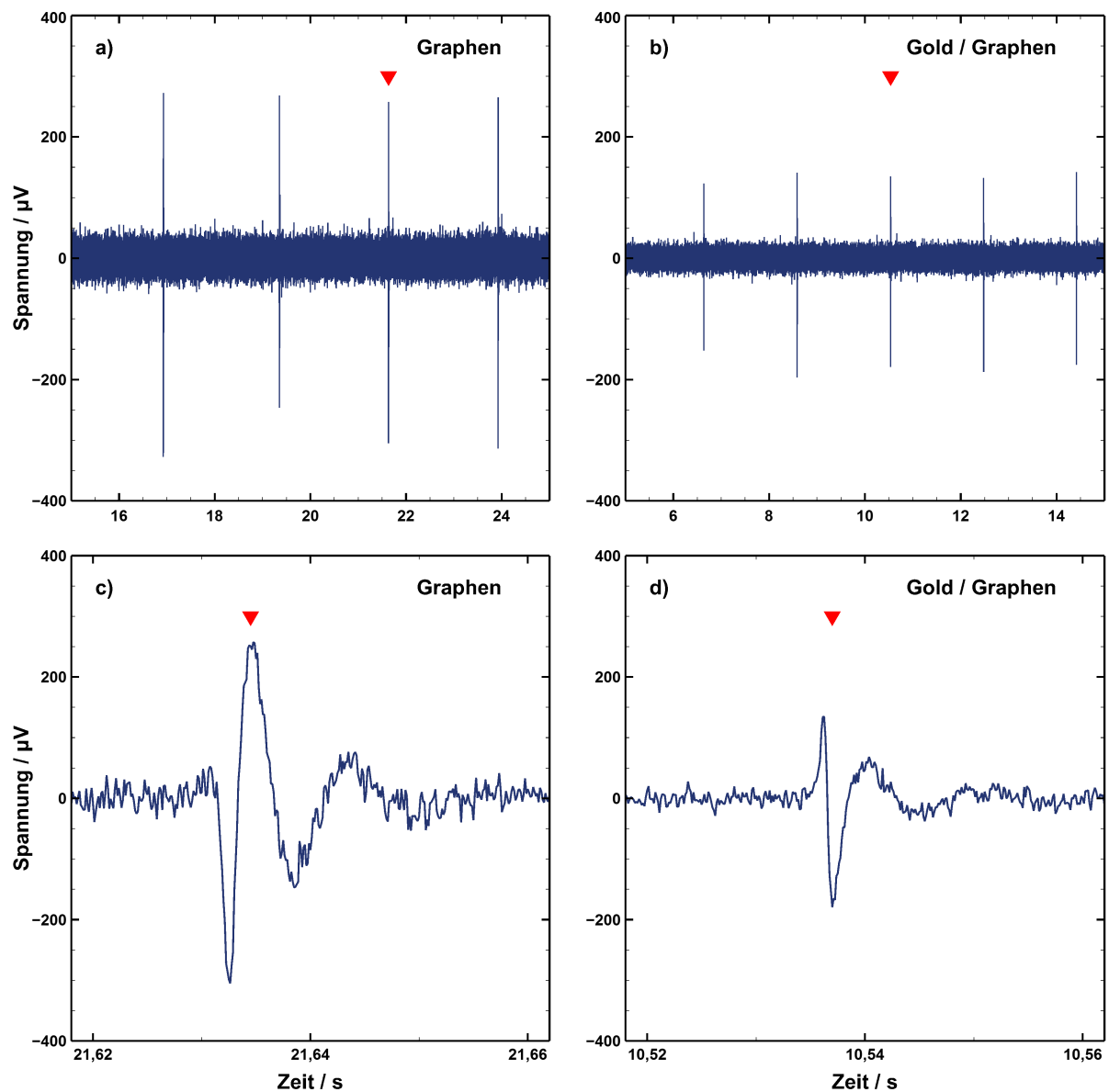
<sup>11</sup> Eclipse Ti, Nikon, Düsseldorf, Deutschland

materialien gut vergleichen, da alle unter denselben Bedingungen gemessen wurden. Die Schlagrate der Zellen unterscheidet sich dabei für Gold / Graphen-, Graphen- und Platinelektroden nur wenig und liegt im normalen Bereich von 0,5 – 0,6 Hz [93].

Die Standardabweichung des Rauschens ist bei Graphenelektroden mit 14,6  $\mu\text{V}$  am höchsten und vergleichbar mit den Neuronen-Messungen an transparenten Elektroden. Da die Signale jedoch größer sind, ergibt sich hier ein SNR von 153,2. Die Platinelektroden weisen das niedrigste Rauschen mit 4,8  $\mu\text{V}$  auf, aber die Signale sind hier kleiner als auf den anderen Chips. Damit ergibt sich für Platinelektroden ein SNR von 113,3. Gold / Graphen-Elektroden zeigen eine mittlere Signalamplitude von 120,1  $\mu\text{V}$ . Zusammen mit einem Rauschen von 8,7  $\mu\text{V}$  ergibt dies ein SNR von 190,1. Damit sind auf allen Graphenelektroden die gemessenen Signale höher als die von Platinelektroden, die mittlere Signalamplitude der Graphenelektroden ist sogar 3,5 mal so hoch. Da alle anderen Bedingungen für die Chips identisch waren, ist diese Diskrepanz auf das Material zurückzuführen. Platin als metallisches Material hat eine glatte Oberfläche, während die Graphenelektroden eine gewisse Rauheit aufweisen. Da Zellen bevorzugt auf rauen Oberflächen wachsen [130], ist hier von einer verbesserten Zell-Elektroden-Kopplung auszugehen. Zusammen mit ihrem niedrigen Rauschen erweisen sich hier die Gold / Graphen-Elektroden als die beste Wahl zur Ableitung der Signale.

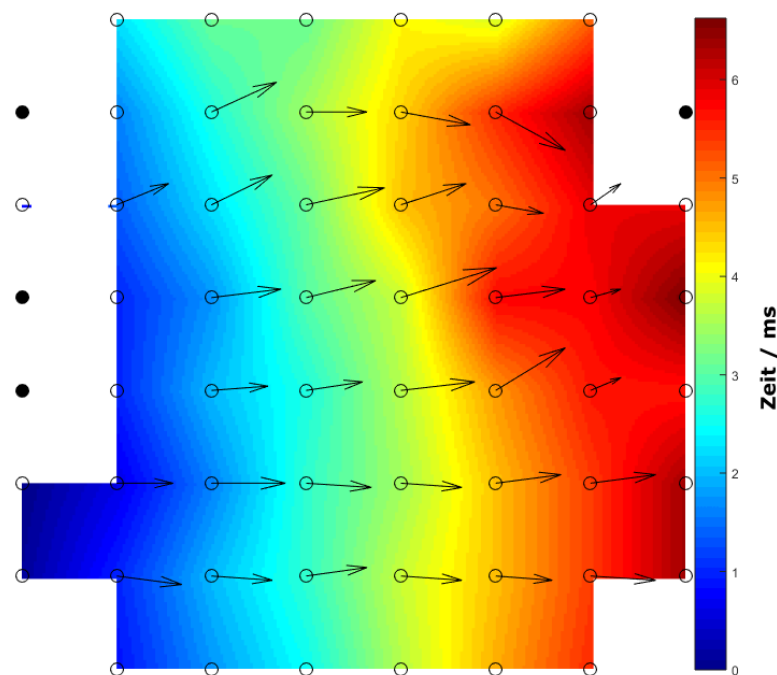
**Tabelle 5.10.:** Zusammenfassung der Ergebnisse der kardialen Ableitungen.

Material	Aussaat	Messung an div	Schlagrate / Hz	Rauschen $\sigma$ / $\mu\text{V}$	Mittlere Signal- amplitude / $\mu\text{V}$	SNR
Gold / Graphen	08.12.2017	6	0,58	11,8	804,1	4608,6
Gold / Graphen	21.02.2018	2	0,53	8,7	120,1	190,1
Graphen (cMEA)	21.02.2018	2	0,46	14,6	181,1	153,2
Platin	21.02.2018	2	0,50	4,8	51,8	113,3



**Abbildung 5.21.:** Extrazelluläre Ableitung von hiPSC-Kardiomyozyten mit Graphen- und Gold / Graphen-Elektroden. a) und b) zeigen jeweils einen Ausschnitt von 10 s, in dem spontan Spikes auftreten: In a) gemessen mit einer transparenten Graphenelektrode an 2 div und in b) gemessen mit einer Gold / Graphen-Elektrode ebenfalls an 2 div. Der rote Pfeil markiert den ausgewählten und im jeweiligen unteren Bild auf einen Ausschnitt von 0,04 s vergrößerten Spike. c) Spike gemessen mit einer transparenten Graphenelektrode und d) Spike einer Gold / Graphen-Elektrode.

Die kardialen Aktionspotentiale gehen von einem Schrittmacherzentrum aus und breiten sich anschließend über den gesamten Chip aus. Das um wenige Millisekunden verzögerte Auftreten der Spikes auf den einzelnen Elektroden lässt sich messen und damit die Reizweiterleitung über das Elektrodenfeld darstellen. Abbildung 5.22 zeigt die Feldpotentialpropagation auf einem Gold / Graphen-MEA. Das Signal startet an der linken Seite der Abbildung und kommt 6,5 ms später bei den Elektroden der rechten Seite an. Die schwarz gefärbten Elektroden wurden aus der Messung entfernt und die Pfeile zeigen die Richtung der Signalausbreitung an. Insgesamt wurden hier nur fünf Elektroden nicht für die Auswertung berücksichtigt, was einer niedrigen Ausfallquote auf dem Chip von 8 % entspricht und zusätzliche Auswertungen ermöglicht. Beispielsweise ist die Ausbreitungsgeschwindigkeit ein wichtiger elektrophysiologischer Parameter und beträgt hier 208 mm/s. Messungen der gleichen Zellen auf TiN-Chips ergeben eine nur wenig langsamere Ausbreitungsgeschwindigkeit von 172 mm/s [184].



**Abbildung 5.22.:** Ausbreitung der Aktionspotentiale über den gesamten Chip mit Gold / Graphen-Elektroden. Die Falschfarbendarstellung zeigt die zeitlich verschobene Detektion eines Signals, das innerhalb von 6,5 ms vom linken Rand des Elektrodenfelds zum rechten läuft. Die schwarz gefärbten Elektroden wurden aus der Messung entfernt und für die Bereiche zwischen den Elektroden wurden die Werte extrapoliert. Die Pfeile zeigen die Richtung der Signalausbreitung an.

### 5.2.3 Langzeitstabilität

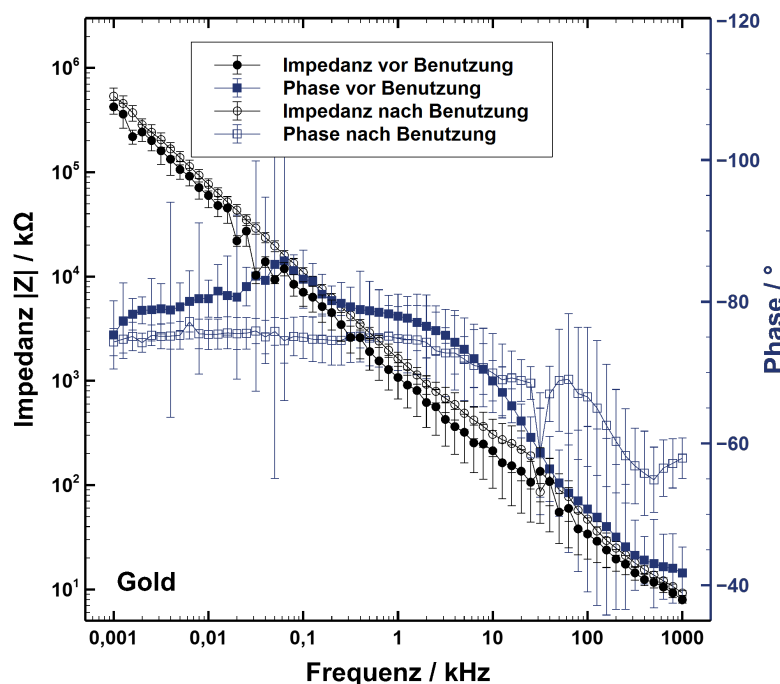
Idealerweise sollte ein MEA-Chip mehrfach verwendbar sein und die üblichen Reinigungs- und Sterilisationsschritte, sowie den Kontakt mit Zellen und Medium unbeschadet überstehen. Um die Elektrodenstabilität bei der typischen Verwendung eines MEA-Chips zu untersuchen, sind Impedanzmessungen vor und nach einem Zellkulturexperiment mit neuronalen Zellen vorgenommen worden. Von dem jeweiligen Chip sind fünf zufällig ausgewählte Mikroelektroden direkt nach Fertigstellung sowie nach der



Durchführung eines Zellkulturexperiments gemessen worden. Die Vorbereitungen dafür beinhalten typischerweise die Sterilisierung der Chips mit Ethanol und UV-Licht und die anschließende Beschichtung mit Adhäsionspromotern wie PEI und Laminin. Nach erfolgter Zellaussaat werden die Chips über vier bis sechs Wochen im Inkubator gelagert und dabei Medienwechsel und Messungen drei Mal wöchentlich durchgeführt. Nach Abschluss der Zellkultur erfolgt zunächst ein Spülen mit Ethanol und Wasser gefolgt von einer Behandlung mit Tergazym<sup>12</sup> für 24 Stunden. Nach gründlichem Spülen mit Wasser und Trocknung der Chips sind die Elektroden ein zweites Mal vermessen worden. Die dabei auftretenden Differenzen geben Auskunft über die Stabilität der Elektrodenmaterialien gegenüber der beschriebenen Prozedur.

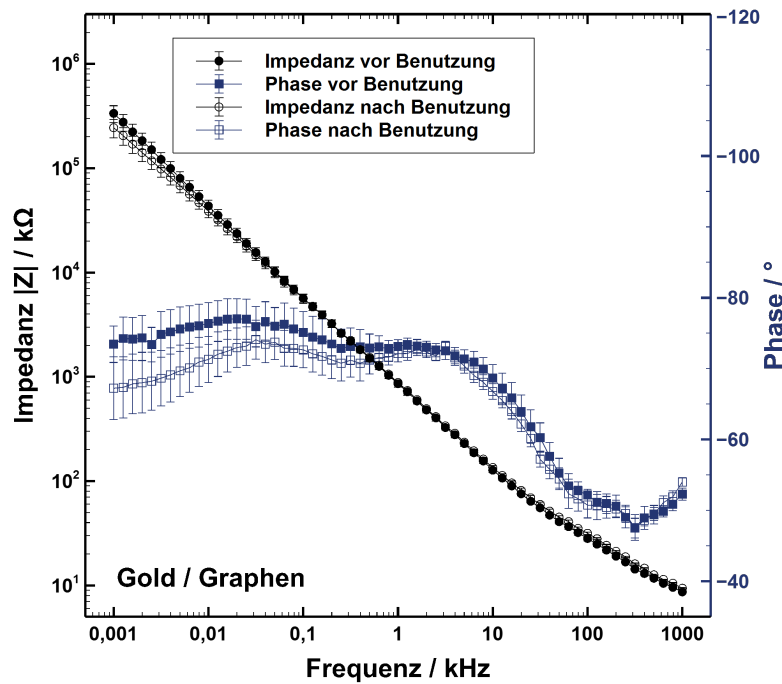
In den Abbildungen 5.23, 5.24 und 5.25 sind die Ergebnisse des Vergleichs für die drei Elektrodenmaterialien Gold, Gold / Graphen und Graphen aufgetragen. Es zeigen sich deutliche Unterschiede zwischen den Materialien. Die Impedanzwerte bei 1 kHz zeigen, dass Goldelektroden mit  $1,08 \pm 0,46 \text{ M}\Omega$  vor und  $1,63 \pm 0,28 \text{ M}\Omega$  nach dem Zellkulturexperiment eine Erhöhung der Werte um 34 % erfahren.

Dagegen verändern Graphenelektroden ihre Impedanz nicht. Die Werte sind hier mit  $2,65 \pm 0,26 \text{ M}\Omega$  vorher und  $2,62 \pm 0,47 \text{ M}\Omega$  danach unverändert, wobei lediglich der Standardfehler leicht variiert. Gold / Graphen-Elektroden haben die niedrigste Impedanz bei 1 kHz mit  $860 \pm 70 \text{ k}\Omega$  vor einem Zellkulturexperiment und  $880 \pm 30 \text{ k}\Omega$  danach, was im Rahmen der Unsicherheiten übereinstimmt. Für die mit Graphen beschichteten Goldelektroden bedeutet dies im Vergleich zu den anderen Elektroden zum Einen leicht verbesserte Impedanzwerte und zum Anderen einen Schutz vor Korrosion und Materialdegradierung in Folge der Zellkultur [181].

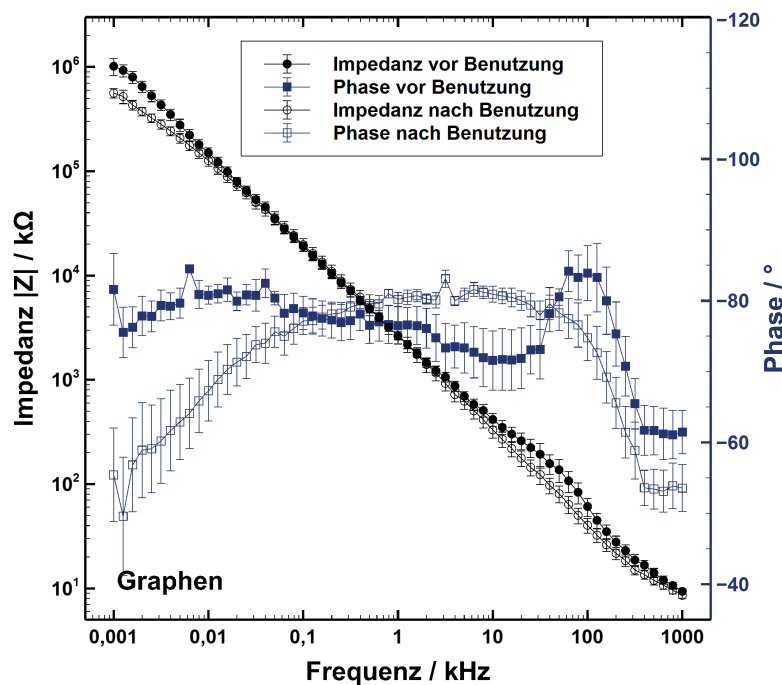


**Abbildung 5.23.:** Impedanzcharakteristik von Goldelektroden vor und nach einem Zellkulturexperiment. Die Impedanz ist nach Benutzung deutlich erhöht und auch die Phase zeigt eine veränderte Frequenzabhängigkeit.

<sup>12</sup> Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland



**Abbildung 5.24.:** Impedanzcharakteristik von Gold / Graphen-Elektroden vor und nach einem Zellkultur-experiment. Die Impedanz ist nach Benutzung unverändert und auch die Phase zeigt nur wenig Abweichungen.



**Abbildung 5.25.:** Impedanzcharakteristik von transparenten Graphenelektroden vor und nach einem Zellkulturexperiment. Die Impedanz ist nach Benutzung bei einigen Frequenzen geringfügig kleiner und der Phasenverlauf zeigt eine veränderte Frequenzabhängigkeit.

---

Zusammenfassend ist das Verhalten von transparenten Graphenelektroden und Gold / Graphen-Elektroden bei der Kultur von neuronalen und kardialen Zellen untersucht worden. Die Elektroden zeigen konsistentes Rauschverhalten für beide Zellarten. Die Amplitude der gemessenen Signale ist für Kardiomyozyten deutlich höher als für Neurone, was in dem elektrophysiologischen Verhalten der jeweiligen Zellen begründet ist. Die transparenten Elektroden haben zudem den Vorteil, dass Zellen direkt auf der Elektrode beobachtet werden können.

Aus der Literatur ist bekannt, dass Zellen bevorzugt auf rauen Substraten wachsen [130]. Als optimal hat sich hier eine Rauheit von 10–45 nm erwiesen, was über der hier gemessenen Rauheit von Graphen von 8,6 nm liegt. Anhand der Daten ist allerdings zu erkennen, dass Graphen dennoch Platin und Gold als Elektrodenmaterial überlegen ist und die Zellen darauf sehr gut wachsen und eine gute elektrische Kopplung vorliegt. Obwohl Platinelektroden ein niedriges Rauschen aufweisen, ist der SNR sowohl von transparenten, vor allem aber von Gold / Graphen-Elektroden denen des Platins überlegen. Die Impedanz kann daher nur begrenzt als Indikator für das SNR und die Fähigkeit, Signale zu messen eingesetzt werden, da noch mehr Faktoren bei Messungen *in vitro* und *in vivo* zu berücksichtigen sind, was sich auch mit Beobachtungen in der Literatur deckt [154, 185].

Zusätzlich haben mit Graphen beschichteten Elektroden einen deutlichen Vorteil bei der Langzeitstabilität. Wie im vorherigen Abschnitt beschrieben, schützt das Graphen unterliegendes Gold vor Veränderungen der Oberfläche und Korrosion, die sich bei unbeschichteten Gold in einer erhöhten Impedanz niederschlagen. Gleichzeitig verbessert sich mit Graphenbeschichtung auch die Impedanz und das SNR, was sowohl bei neuronalen als auch bei kardialen Kulturen beobachtet werden konnte.

---

## 6 Zusammenfassung und Ausblick

Diese Arbeit untersucht Graphenelektroden auf ihre Eigenschaften zur Ableitung und Stimulation neuronaler Zellen. Dazu wurden Graphen-basierte Mikroelektroden-Arrays hergestellt und charakterisiert. Zusätzlich wurden Graphen-Makroelektroden gefertigt, um einen besseren Vergleich mit den Literaturwerten zu erreichen. Die Mikroelektroden wurden in drei verschiedenen Elektrodenkonfigurationen hergestellt. Bei zwei der Konfigurationen handelt es sich um transparente Graphenelektroden, während die dritte aus Goldelektroden mit Graphen-Beschichtung besteht. Zum Vergleich wurden ebenfalls Gold-, Platin-, TiN- und CNT-Elektroden untersucht. Die Graphenherstellung erfolgte durch CVD und das Graphen wurde mit einem Polymer-freien Transferprozess auf die Mikroelektroden aufgebracht und mittels Lift-off strukturiert. Dazu wurden für den Lift-off optimierte Strukturen entworfen und der Prozess dahingehend optimiert. Im Vergleich zu gängigen Methoden hat der Lift-off den Vorteil, dass das Graphen nicht durch Polymer-Reste verunreinigt wird und mit aufwändigen Verfahren gereinigt werden muss. Dies ist im Rahmen dieser Arbeit zuerst beschrieben und veröffentlicht worden.

Die Charakterisierung des Graphens erfolgte mittels Raman-Spektroskopie, AFM- und REM-Messungen. Die Auswertung der Raman-Messung bestätigte den erfolgreichen Lift-off und erlaubte eine Beurteilung der Graphen-Qualität. Mit AFM und REM wurde die Oberflächenstruktur der Elektroden untersucht und die Rauheit bestimmt. Zur elektrochemischen Charakterisierung der Elektroden wurden Impedanzspektroskopie, Zyklovoltammetrie und Transientenmessungen verwendet. Mit Hilfe dieser Untersuchungen war es möglich, die relevanten Materialparameter zu bestimmen und die Eignung der Elektroden zur Messung neuronaler Aktionspotentiale sowie zur Stimulation zu beurteilen. Impedanzspektroskopie ermöglichte zusätzlich eine Einschätzung des Korrosionsverhaltens der Elektroden und durch Zyklovoltammetrie konnten das maximale und minimale sichere Potential und daraus die Ladungsspeicherkapazität einer Elektrode bestimmt werden. Für Stimulation ist zudem die Ladungsinjektionskapazität ein wichtiger Parameter. Dieser wurde durch die Messung von Potentialtransienten bestimmt. Weitere wichtige Merkmale wie die Biokompatibilität, die Langzeitstabilität, die Transparenz und das SNR bei der Ableitung neuronaler und kardialer Signale konnten durch Zellkulturexperimente evaluiert werden.

Bei dem verwendeten Graphen handelt es sich um mehrlagiges, turbostratisches Graphen mit einer niedrigen Defektdichte. Seine mittlere Oberflächenrauheit beträgt 8,6 nm, was deutlich über dem Wert für Metalle liegt. Der gleiche Wert ergibt sich auch für mit Graphen beschichteten Goldelektroden, woraus geschlossen werden kann, dass die Rauheit unabhängig vom Substrat ist. Eine höhere Rauheit bedingt eine gute Zelladhäsion, was Graphen zu einem besseren Elektrodenmaterial macht. Gleichzeitig erhöht eine Beschichtung mit Graphen die Rauheit von Metallelektroden, was durch Zellkulturexperimenten bestätigt werden konnte. Sie zeigen, dass sowohl Neurone als auch Kardiomyozyten gut auf allen Graphenelektroden adhäreren und ihre elektrische Kopplung besser ist als bei Platinelektroden. Gleichzeitig weisen Gold / Graphen-Elektroden konsistent bei allen Zellkulturexperimenten ein höheres Signal-Rausch-Verhältnis auf als transparente Graphenelektroden und sind damit gut für die Ableitung von Zellsignalen geeignet. Die Charakterisierung der Elektroden ergibt außerdem eine Verbesserung der Impedanzwerte der Goldelektroden durch Beschichtung mit Graphen, wobei die Werte der Gold / Graphen-Elektroden mit denjenigen von Platin vergleichbar sind. Die Stimulationseigenschaften zeigen, dass Gold / Graphen-Elektroden die höchsten Werte von allen planaren Materialien für Ladungsspeicherkapazität und Ladungsinjektionskapazität aufweisen. Zudem zeigt sich, dass die Beschichtung mit Graphen die Korrosionsresistenz und damit die Langzeitstabilität von Goldelektroden erhöht.

---

Die transparenten Graphenelektroden dagegen zeigen hohe Impedanzen und damit auch ein im Vergleich zu den anderen Materialien erhöhtes Rauschsignal. Mit ihnen konnten aber die Signale sowohl von Kardiomyozyten als auch von neuronalen Zellen abgeleitet werden. Unter Stimulationsbedingungen weisen sie den größten sicheren Potentialbereich aller verglichenen Materialien auf, wobei ihre Ladungsinjektionskapazität niedriger ist als die von Gold / Graphen-Elektroden. Der große sichere Potentialbereich ist positiv für die Stimulation zu werten, da die Auswahl der Stimulationspulse dadurch weniger Einschränkungen unterliegt, als es bei anderen Materialien der Fall ist. Zwischen den beiden Konfigurationen für transparente Elektroden können keine signifikanten Unterschiede bei den elektrochemischen Charakteristika festgestellt werden. Beide weisen den Vorteil auf, dass Zellen direkt auf den Elektroden beobachtet werden können, wobei unterschiedlich viel in der Nähe der Elektrode verdeckt wird. Vor allem für Zellen, die starke Signale zeigen, wie zum Beispiel Kardiomyozyten, sind sie eine gute Alternative zu anderen transparenten Elektrodenmaterialien wie zum Beispiel Indiumzinnoxid, das einen geringeren Transmissionsgrad und eine höhere Impedanz aufweist.

Bereits optogenetische Experimente mit Hilfe von Graphen-Makroelektroden führten zu neuen Ergebnissen bei der optischen Stimulation von neuronalem Gewebe. Hier bieten die in dieser Arbeit gezeigten Mikroelektroden das Potential, verbesserte Sensoren mit deutlich höherer Ortsauflösung zu entwickeln. Zusätzlich können aus den hier gewonnenen Erkenntnissen weitere mögliche Elektrodenmaterialien abgeleitet werden. Da Kohlenstoffnanomaterialien generell vielversprechende Elektrodeneigenschaften aufweisen, insbesondere wenn sie eine große Oberfläche besitzen, ist reduziertes Graphenoxid eine potentielle Alternative. Erste Versuche im Rahmen einer Studienarbeit zeigten reduzierte Impedanzen von mit reduziertem Graphenoxid beschichteten Elektroden im Vergleich zu Goldelektroden. Ebenso wäre die Beschichtung von Platinelektroden mit Graphen denkbar, um ähnlich positive Effekte wie im Fall von Gold / Graphen-Elektroden zu erhalten. Für Anwendungen, bei denen transparente Elektroden von Vorteil sind, ist weiterhin die Funktionalisierung und Dotierung von Graphen eine Möglichkeit, um die elektronischen Eigenschaften zu verbessern, ohne die Transparenz der Elektroden zu beeinträchtigen. Für Stimulationsexperimente zeigen Graphenelektroden sich grundsätzlich geeignet. Das eröffnet viele Möglichkeiten unter anderem auch für den Einsatz *in vivo* als Elektroden für medizinische Implantate. Gleichzeitig kann mit Stimulation auch das Lernverhalten von neuronalen Netzwerken untersucht und die Netzwerkaktivität gesteuert werden. Graphenelektroden ermöglichen hier vielfältige Anwendungen.

---

# Literatur

- [1] Marco Piccolino. “Luigi Galvani and animal electricity: two centuries after the foundation of electrophysiology”. In: *Trends in Neurosciences* 20.10 (1997) (siehe S. 1).
- [2] Alessandro Volta. “XVII. On the electricity excited by the mere contact of conducting substances of different kinds. In a letter from Mr. Alexander Volta, F. R. S. Professor of Natural Philosophy in the University of Pavia, to the Rt. Hon. Sir Joseph Banks, Bart. K. B. P. R. S.” In: *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 90 (1800) (siehe S. 1).
- [3] E. D. A. B. Adrian. *The Basis of Sensation: The Action of the Sense Organs*. O-P books. Christophers, 1928 (siehe S. 1).
- [4] A. L. Hodgkin, A. F. Huxley und B. Katz. “Measurement of current-voltage relations in the membrane of the giant axon of Loligo”. In: *The Journal of Physiology* 116.4 (1952) (siehe S. 1).
- [5] D. H. Hubel und T. N. Wiesel. “Receptive fields of single neurones in the cat’s striate cortex”. In: *The Journal of Physiology* 148.3 (1959) (siehe S. 1).
- [6] Makoto Taketani und Michel Baudry. *Advances in Network Electrophysiology Using Multi Electrode Arrays*. Hrsg. von Makoto Taketani und Michel Baudry. Springer Link, 2006 (siehe S. 1, 19, 20).
- [7] Anoop C. Patil und Nitish V. Thakor. “Implantable neurotechnologies: a review of micro- and nanoelectrodes for neural recording”. In: *Medical & Biological Engineering & Computing* 54.1 (2016) (siehe S. 1–3).
- [8] K. S. Novoselov u. a. “Electric Field Effect in Atomically Thin Carbon Films”. In: *Science* 306 (2004) (siehe S. 2, 13, 15).
- [9] Changgu Lee u. a. “Measurement of the Elastic Properties and Intrinsic Strength of Monolayer Graphene”. In: *Science* 321.5887 (2008) (siehe S. 2, 15).
- [10] J. Scott Bunch u. a. “Impermeable Atomic Membranes from Graphene Sheets”. In: *Nano Letters* 8.8 (2008) (siehe S. 2, 15).
- [11] Hongwei Zhu u. a. *Graphene: fabrication, characterizations, properties and applications*. London: Academic Press, 2018 (siehe S. 2, 15, 16, 36).
- [12] Pouria Fattahi u. a. “A Review of Organic and Inorganic Biomaterials for Neural Interfaces”. In: *Advanced Materials* 26.12 (2014) (siehe S. 2).
- [13] Joseph B. Nadol u. a. “Cellular immunologic responses to cochlear implantation in the human”. In: *Hearing Research* 318 (2014) (siehe S. 2, 20, 30).
- [14] Ulises A. Aregueta-Robles u. a. “Organic electrode coatings for next-generation neural interfaces”. In: *Frontiers in Neuroengineering* 7 (2014) (siehe S. 2, 3).
- [15] Carl H. Hamann und Wolf Vielstich. *Elektrochemie*. 4. Auflage. Wiley-VCH, 2005 (siehe S. 4–6, 12, 42).
- [16] H. Stöcker. *Taschenbuch der Physik*. Edition Harri Deutsch. H. Deutsch, 2005 (siehe S. 4).
- [17] C. V. Chaparro u. a. “Considerations on electrical impedance measurements of electrolyte solutions in a four-electrode cell”. In: *Journal of Physics: Conference Series* 687 (2016) (siehe S. 4).
- [18] W. Menz, J. Mohr und O. Paul. *Mikrosystemtechnik für Ingenieure*. Wiley-VCH, 2005 (siehe S. 5).
- [19] Peter W. Atkins und Julio de Paula. *Physikalische Chemie*. 5. Auflage. Wiley-VCH, 2013 (siehe S. 5).



- 
- [20] Eliezer Gileadi. *Physical Electrochemistry*. Wiley-VCH, 2011 (siehe S. 5, 10–12, 43, 44).
- [21] A. J. Bard und L. R. Faulkner. *Electrochemical methods*. Wiley, 2001 (siehe S. 7–9, 11, 12, 42, 44).
- [22] Koichi Aoki und Janet Osteryoung. “Diffusion-controlled current at the stationary finite disk electrode: Theory”. In: *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry* 122 (1981) (siehe S. 8).
- [23] Alan M. Bond u. a. “A comparison of the chronoamperometric response at inlaid and recessed disc microelectrodes”. In: *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry* 249.1 (1988) (siehe S. 8, 10).
- [24] James B. Flanagan und Lynn Marcoux. “Digital simulation of edge effects at planar disk electrodes”. In: *The Journal of Physical Chemistry* 77.8 (1973) (siehe S. 8).
- [25] Iwona B. Beech und Jan Sunner. “Biocorrosion: towards understanding interactions between biofilms and metals”. In: *Current Opinion in Biotechnology* 15.3 (2004) (siehe S. 12).
- [26] H. Zitter und H. Plenk. “The electrochemical behavior of metallic implant materials as an indicator of their biocompatibility”. In: *Journal of Biomedical Materials Research* 21 (1987) (siehe S. 12).
- [27] R. Peierls. “Quelques proprietes typiques des corps solides”. In: *Annales de l’institut Henri Poincare* 5.3 (1935) (siehe S. 13).
- [28] L. D. Landau. “Zur Theorie der Phasenumwandlungen II”. In: *Phys. Z. Sowjetunion* 11 (1937) (siehe S. 13).
- [29] N. D. Mermin. “Crystalline Order in Two Dimensions”. In: *Phys. Rev.* 176 (1 1968) (siehe S. 13).
- [30] K. S. Novoselov. “Nobel Lecture: Graphene: Materials in the Flatland”. In: *Reviews of Modern Physics* 83 (2011) (siehe S. 13, 15).
- [31] Mikhail I. Katsnelson. “Graphene: carbon in two dimensions”. In: *Materials Today* (2007) (siehe S. 13–15).
- [32] A. K. Geim und K. S. Novoselov. “The rise of graphene”. In: *Nature Materials* 6.3 (2007) (siehe S. 13).
- [33] L. M. Malard u. a. “Raman spectroscopy in graphene”. In: *Physics Reports* 473 (2009) (siehe S. 13, 48, 49).
- [34] Joseph A. Garlow u. a. “Large-Area Growth of Turbostratic Graphene on Ni(111) via Physical Vapor Deposition”. In: *Scientific Reports* 6 (2016) (siehe S. 13).
- [35] R. Gross und A. Marx. *Festkörperphysik*. Oldenbourg Wissenschaftsverlag, 2018 (siehe S. 14).
- [36] Luis Foa Torres, Stephan Roche und Jean-Christophe Charlier. *Introduction to Graphene Based Nanomaterials: From Electronic Structure to Quantum Transport*. Cambridge University Press, 2014 (siehe S. 14, 18, 19).
- [37] Stephanie Reich, Christian Thomsen und Janina Maultzsch. *Carbon nanotubes: an introduction to the basic concepts and physical properties*. Weinheim: Wiley-VCH, 2004 (siehe S. 14, 18).
- [38] A. H. Castro Neto u. a. “The electronic properties of graphene”. In: *Reviews of Modern Physics* 81 (2009) (siehe S. 14).
- [39] S. Fratini und F. Guinea. “Substrate-limited electron dynamics in graphene”. In: *Physical Review B* 77.19 (2008) (siehe S. 14).
- [40] Lucyano J. A. Macedo u. a. “Bioelectronics and Interfaces Using Monolayer Graphene”. In: *ChemElectroChem* 6.1 (2019) (siehe S. 15, 17, 18).

- 
- [41] Min Yi und Zhigang Shen. "A review on mechanical exfoliation for the scalable production of graphene". In: *Journal of Materials Chemistry A* 3 (2015) (siehe S. 15).
- [42] Lisa M. Viculis u. a. "Intercalation and exfoliation routes to graphite nanoplatelets". In: *Journal of Materials Chemistry* 15.9 (2005) (siehe S. 16).
- [43] Yenny Hernandez u. a. "High-yield production of graphene by liquid-phase exfoliation of graphite". In: *Nature Nanotechnology* 3.9 (2008) (siehe S. 16).
- [44] S. V. Tkachev u. a. "Reduced graphene oxide". In: *Inorganic Materials* 48.8 (2012) (siehe S. 16).
- [45] E. Casero u. a. "Differentiation between graphene oxide and reduced graphene by electrochemical impedance spectroscopy (EIS)". In: *Electrochemistry Communications* 20 (2012) (siehe S. 16).
- [46] Xueleli Liang u. a. "Toward Clean and Crackless Transfer of Graphene". In: *ACS Nano* 5.11 (2011) (siehe S. 16, 17).
- [47] Junmo Kang u. a. "Graphene transfer: key for applications". In: *Nanoscale* 4.18 (2012) (siehe S. 16).
- [48] Xiangping Chen, Lili Zhang und Shanshan Chen. "Large area CVD growth of graphene". In: *Synthetic Metals* 210 (2015). Reviews of Current Advances in Graphene Science and Technology (siehe S. 16).
- [49] Xuesong Li u. a. "Evolution of Graphene Growth on Ni and Cu by Carbon Isotope Labeling". In: *Nano Letters* 9.12 (2009) (siehe S. 17).
- [50] Yi Zhang, Luyao Zhang und Chongwu Zhou. "Review of Chemical Vapor Deposition of Graphene and Related Applications". In: *Accounts of Chemical Research* 46.10 (2013) (siehe S. 17).
- [51] Yung-Chang Lin u. a. "Graphene Annealing: How Clean Can It Be?" In: *Nano Letters* 12.1 (2012) (siehe S. 17, 53).
- [52] Michael Her, Ryan Beams und Lukas Novotny. "Graphene transfer with reduced residue". In: *Physics Letters A* 377.21 (2013) (siehe S. 17, 53).
- [53] Choi. *Graphene: Synthesis and Application*. Hrsg. von Jo-Won Lee Wonbong Choi. CRC Press, 2012 (siehe S. 17).
- [54] Walt A. de Heer u. a. "Epitaxial graphene". In: *Solid State Communications* 143.1 (2007) (siehe S. 17).
- [55] Melinda Y. Han u. a. "Energy Band-Gap Engineering of Graphene Nanoribbons". In: *Physical Review Letters* 98.20 (2007) (siehe S. 18).
- [56] Frank Schwierz. "Graphene transistors". In: *Nature Nanotechnology* 5 (2010) (siehe S. 18).
- [57] Xuan Wang u. a. "Transparent Carbon Films as Electrodes in Organic Solar Cells". In: *Angewandte Chemie International Edition* 47.16 (2008) (siehe S. 18).
- [58] Fengnian Xia u. a. "Ultrafast graphene photodetector". In: *Nature Nanotechnology* 4 (2009) (siehe S. 18).
- [59] Peter Blake u. a. "Graphene-Based Liquid Crystal Device". In: *Nano Letters* 8.6 (2008) (siehe S. 18).
- [60] S. R. C. Vivekchand u. a. "Graphene-based electrochemical supercapacitors". In: *Journal of Chemical Sciences* 120.1 (2008) (siehe S. 18).
- [61] Mohammad A. Rafiee u. a. "Enhanced Mechanical Properties of Nanocomposites at Low Graphene Content". In: *ACS Nano* 3.12 (2009) (siehe S. 18).
- [62] F. Schedin u. a. "Detection of individual gas molecules adsorbed on graphene". In: *Nature Materials* 6.9 (2007) (siehe S. 18).

- 
- [63] Tao Wang u. a. "A Review on Graphene-Based Gas/Vapor Sensors with Unique Properties and Potential Applications". In: *Nano-Micro Letters* 8.2 (2016) (siehe S. 18).
- [64] Jing Li u. a. "High-sensitivity determination of lead and cadmium based on the Nafion-graphene composite film". In: *Analytica Chimica Acta* 649.2 (2009) (siehe S. 18).
- [65] Ming Zhou, Yueming Zhai und Shaojun Dong. "Electrochemical Sensing and Biosensing Platform Based on Chemically Reduced Graphene Oxide". In: *Analytical Chemistry* 81.14 (2009) (siehe S. 18).
- [66] Yuyan Shao u. a. "Graphene Based Electrochemical Sensors and Biosensors: A Review". In: *Electroanalysis* 22.10 (2010) (siehe S. 18).
- [67] A. Holleman, N. Wiberg und M. Krieger-Hauwede. *Anorganische Chemie Band 1: Grundlagen und Hauptgruppenelemente*. De Gruyter, 2016 (siehe S. 18).
- [68] S. Bellucci. "Carbon nanotubes: physics and applications". In: *physica status solidi c* 2.1 (2005) (siehe S. 18).
- [69] Dirk M. Guldi und Nazario Martin. *Carbon nanotubes and related structures : synthesis, characterization, functionalization, and applications*. Wiley, 2010 (siehe S. 18).
- [70] Christoph Nick u. a. "Three-Dimensional Carbon Nanotube Electrodes for Extracellular Recording of Cardiac Myocytes". In: *Biointerphases* 7.1 (2012) (siehe S. 18).
- [71] Ke Wang u. a. "Neural Stimulation with a Carbon Nanotube Microelectrode Array". In: *Nano Letters* 6.9 (2006) (siehe S. 18, 34, 76).
- [72] Naser Pour Aryan, Hans Kaim und Albrecht Rothermel. *Stimulation and Recording Electrodes for Neural Prostheses*. Springer Briefs in Electrical and Computer Engineering. Springer International Publishing, 2015 (siehe S. 19, 20).
- [73] Yoonkey Nam. "Material considerations for in vitro neural interface technology". In: *MRS Bulletin* 37.6 (2012) (siehe S. 19).
- [74] M. Janders u. a. "Novel thin film titanium nitride micro-electrodes with excellent charge transfer capability for cell stimulation and sensing applications". In: *Proceedings of 18th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*. 1996 (siehe S. 19, 20, 76).
- [75] A. Holleman, N. Wiberg und M. Krieger-Hauwede. *Anorganische Chemie Band 2: Nebengruppenelemente, Lanthanoide, Actinoide, Transactinoide*. De Gruyter, 2016 (siehe S. 19, 20).
- [76] Christoph Nick u. a. "High aspect ratio gold nanopillars on microelectrodes for neural interfaces". In: *Microsystem Technologies* 20 (2014) (siehe S. 19, 33, 57).
- [77] Francesca Santoro u. a. "Interfacing Electrogenic Cells with 3D Nanoelectrodes: Position, Shape, and Size Matter". In: *ACS Nano* 8.7 (2014) (siehe S. 19).
- [78] Erkin Seker u. a. "The fabrication of low impedance nanoporous gold multiple electrode arrays for neural electrophysiology studies". In: *Nanotechnology* 21.12 (2010) (siehe S. 19).
- [79] Kenneth Horch und Daryl Kipke. *Neuroprosthetics*. World Scientific, 2004 (siehe S. 19).
- [80] Marc D. Ferro und Nicholas A. Melosh. "Electronic and Ionic Materials for Neurointerfaces". In: *Advanced Functional Materials* 28.12 (2018) (siehe S. 19).
- [81] T. L. Rose und L. S. Robblee. "Electrical stimulation with Pt electrodes. VIII. Electrochemically safe charge injection limits with 0.2 ms pulses (neuronal application)". In: *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* 37.11 (1990) (siehe S. 20).
- [82] Stuart F. Cogan. "Neural Stimulation and Recording Electrodes". In: *Annual Review of Biomedical Engineering* 10.1 (2008) (siehe S. 20, 33, 34, 45, 76).

- 
- [83] Qwane Biosciences SA. *MEA60-100-30-Pt*. <http://www.qwane.com/Documents/MEA60-100-30-Pt.pdf>, Juli 2019 (siehe S. 20).
- [84] Timo Stöver und Thomas Lenarz. “Biomaterials in cochlear implants”. In: *GMS current topics in otorhinolaryngology, head and neck surgery* 8.10 (2011) (siehe S. 20).
- [85] K. Lal u. a. “Electrical resistivity of titanium nitride thin films prepared by ion beam–assisted deposition”. In: *Physica B: Condensed Matter* 307.1 (2001) (siehe S. 20).
- [86] J. D. Weiland, D. J. Anderson und M. S. Humayun. “In vitro electrical properties for iridium oxide versus titanium nitride stimulating electrodes”. In: *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* 49.12 (2002) (siehe S. 20, 76).
- [87] Multichannel Systems. *Microelectrode Array Manual*. MCS GmbH. Reutlingen, 2014 (siehe S. 20, 21).
- [88] Harvey Lodish u. a. *Molecular cell biology*. 2016 (siehe S. 22, 24).
- [89] Dominique Debanne u. a. “Axon Physiology”. In: *Physiological Reviews* 91.2 (2011) (siehe S. 22, 24).
- [90] Mark F. Bear, Barry W. Connors und Michael A. Paradiso. *Neuroscience: Exploring the Brain*. Wolters Kluwer Health, 2015 (siehe S. 22, 24).
- [91] B. Cornell. <http://ib.bioninja.com.au>. <http://ib.bioninja.com.au>. Nov. 2018 (siehe S. 23, 24).
- [92] Gerald Karp. *Cell and molecular biology : concepts and experiments*. 5th ed. Hoboken, NJ: John Wiley, 2008 (siehe S. 24).
- [93] Johannes Frieß. “Einfluss ionisierender Strahlung auf die elektrophysiologischen Eigenschaften kardialer Zellen”. Diss. Technische Universität Darmstadt, 2016 (siehe S. 24, 83).
- [94] Arnold M. Katz. *Physiology of the Heart*. 5th ed. Philadelphia : Wolters Kluwer Health, 2015 (siehe S. 25).
- [95] Kenta Shimba u. a. “Characterization of Synchronized Burst in Developing Human iPS Cell-derived Neuronal Networks with a Microtunnel Device”. In: *Frontiers in Neuroscience* 113 (2016) (siehe S. 27).
- [96] Marie Engelene J. Obien u. a. “Revealing neuronal function through microelectrode array recordings”. In: *Frontiers in Neuroscience* 8 (2015) (siehe S. 27).
- [97] Stephanie Miceli u. a. “Impedance Spectrum in Cortical Tissue: Implications for Propagation of LFP Signals on the Microscopic Level”. In: *eNeuro* 4.1 (2017) (siehe S. 27).
- [98] Margot Mayer u. a. “Electrophysiological investigation of human embryonic stem cell derived neurospheres using a novel spike detection algorithm”. In: *Biosensors and Bioelectronics* 100 (2018) (siehe S. 27).
- [99] Jaap van Pelt u. a. “Dynamics and plasticity in developing neuronal networks in vitro”. In: *Development, Dynamics and Pathology of Neuronal Networks: from Molecules to Functional Circuits*. Bd. 147. Progress in Brain Research. Elsevier, 2005 (siehe S. 27).
- [100] Jacopo Tessadori und Michela Chiappalone. “Closed-loop neuro-robotic experiments to test computational properties of neuronal networks”. In: *Journal of visualized experiments* (2015) (siehe S. 27).
- [101] Daniel A. Wagenaar u. a. “Controlling Bursting in Cortical Cultures with Closed-Loop Multi-Electrode Stimulation”. In: *The Journal of Neuroscience* 25.3 (2005) (siehe S. 27).
- [102] Udo Kraushaar, Elke Guenther und Dietmar Hess. *Stem Cell-Derived Models in Toxicology*. Hrsg. von Mike Clements und Liz Roquemore. Springer New York, 2017 (siehe S. 27).

- 
- [103] Hamid Charkhkar u. a. "Amyloid beta modulation of neuronal network activity in vitro". In: *Brain Research* 1629 (2015) (siehe S. 27).
- [104] Johannes L. Frieß and Anja Heselich u. a. "Electrophysiologic and cellular characteristics of cardiomyocytes after X-ray irradiation". In: *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 777 (2015) (siehe S. 27).
- [105] Tim Köhler u. a. "Terrestrial Trunked Radio (TETRA) exposure of neuronal in vitro networks". In: *Environmental Research* 162 (2018) (siehe S. 27).
- [106] A. Aldo Faisal, Luc P. J. Selen und Daniel M. Wolpert. "Noise in the nervous system". In: *Nature Reviews Neuroscience* 9 (2008) (siehe S. 27).
- [107] U. Bertocci und F. Huet. "Noise Analysis Applied to Electrochemical Systems". In: *Corrosion* 51.2 (1995) (siehe S. 27).
- [108] S. Kogan. *Electronic noise and fluctuations in solids*. Cambridge University Press, 1996 (siehe S. 27).
- [109] J. B. Johnson. "Thermal Agitation of Electricity in Conductors". In: *Nature* 119 (1927) (siehe S. 28).
- [110] H. Nyquist. "Thermal agitation of electric charge in conductors". In: *Physical Review* 32 (1928) (siehe S. 28).
- [111] Christoph Nick u. a. "DrCell - a software tool for the analysis of cell signals recorded with extracellular microelectrodes". In: *Signal processing: an international journal* 7.2 (2014) (siehe S. 28, 78).
- [112] Paolo Massobrio, Giuseppe Massobrio und Sergio Martinoia. "Interfacing cultured neurons to microtransducers arrays: a review of the neuro-electronic junction models". In: *Frontiers in Neuroscience* 10.282 (2016) (siehe S. 29).
- [113] Christoph Nick. "Mikrointegrierte Nanostrukturen mit hohem Aspektverhältnis als neuronale Schnittstelle". Diss. Technische Universität Darmstadt, 2014 (siehe S. 29, 57, 62, 80).
- [114] Blake S. Wilson und Michael F. Dorman. "Cochlear implants: A remarkable past and a brilliant future". In: *Hearing Research* 242.1 (2008) (siehe S. 29).
- [115] Mona Herz. "Faszination Wissenschaft: Neuroimplantate-Zwischen Elektronen und Neuronen". In: *Via medici* 13.5 (2008) (siehe S. 29).
- [116] Valentin A. Pavlov und Kevin J. Tracey. "Bioelectronic medicine: updates, challenges and paths forward". In: *Bioelectronic Medicine* 5.1 (2019) (siehe S. 29).
- [117] Joel S. Perlmutter und Jonathan W. Mink. "Deep Brain Stimulation". In: *Annual Review of Neuroscience* 29.1 (2006) (siehe S. 29, 31).
- [118] MED-EL. <https://www.medel.com/de/image-gallery>. Feb. 2019 (siehe S. 30).
- [119] Jörg-Uwe Meyer. "Retina implant – a bioMEMS challenge". In: *Sensors and Actuators A: Physical* 97 (2002) (siehe S. 31).
- [120] Katarina Stingl u. a. "Subretinal Visual Implant Alpha IMS – Clinical trial interim report". In: *Vision Research* 111 (2015) (siehe S. 31).
- [121] Mark S. Humayun u. a. "Interim Results from the International Trial of Second Sight's Visual Prosthesis". In: *Ophthalmology* 119.4 (2012) (siehe S. 31).
- [122] A. Benazzouz. "Parkinsons disease: From pathophysiology to new therapeutical approaches". In: *Frontiers in Neuroscience*. Bd. 4. 2010 (siehe S. 31).
- [123] Volker A. Coenen u. a. "Tiefe Hirnstimulation bei neurologischen und psychiatrischen Erkrankungen". In: *Deutsches Ärzteblatt International* 112.31 (2015) (siehe S. 31).
-



- 
- [124] Medtronic. <https://www.medtronic.com/de-de/fachkreise/produkte/neurologie-schmerztherapie/neurostimulationssysteme-zur-tiefen-hirnstimulation/elektroden-und-verlaengerungen.html>. März 2019 (siehe S. 31).
- [125] M. Hirata u. a. "Clinical Application of Implantable Brain Machine Interfaces". In: *IEEE International Conference on Systems, Man, and Cybernetics*. 2018 (siehe S. 31).
- [126] David F. Williams. "On the mechanisms of biocompatibility". In: *Biomaterials* 29.20 (2008) (siehe S. 32).
- [127] Erich Wintermantel und Suk-Woo Ha, Hrsg. *Medizintechnik : Life Science Engineering*. 2009 (siehe S. 32).
- [128] Christoph Nick u. a. "Growth and structural discrimination of cortical neurons on randomly oriented and vertically aligned dense carbon nanotube networks". In: *Beilstein Journal of Nanotechnology* 5 (2014) (siehe S. 33).
- [129] Ju-Hyun Kim u. a. "Surface-modified microelectrode array with flake nanostructure for neural recording and stimulation". In: *Nanotechnology* 21.8 (2010) (siehe S. 33).
- [130] Francesco Gentile u. a. "Cells preferentially grow on rough substrates". In: *Biomaterials* 31.28 (2010) (siehe S. 33, 83, 88).
- [131] Daniel A. Wagenaar, Jerome Pine und Steve M. Potter. "Effective parameters for stimulation of dissociated cultures using multi-electrode arrays". In: *Journal of Neuroscience Methods* 138 (2004) (siehe S. 33, 35).
- [132] Daniel R. Merrill. *The Electrochemistry of Charge Injection at the Electrode/Tissue Interface*. Hrsg. von David Zhou und Elias Greenbaum. Springer New York, 2010 (siehe S. 33, 35).
- [133] S. F. Cogan u. a. "Potential-biased, asymmetric waveforms for charge-injection with activated iridium oxide (AIROF) neural stimulation electrodes". In: *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* 53.2 (2006) (siehe S. 35).
- [134] Andreas Bahmer, Marek Polak und Uwe Baumann. "Recording of electrically evoked auditory brainstem responses after electrical stimulation with biphasic, triphasic and precision triphasic pulses". In: *Hearing Research* 259.1 (2010) (siehe S. 35).
- [135] Raymond M. Bonnet u. a. "Speech recognition with a cochlear implant using triphasic charge-balanced pulses". In: *Acta Oto-Laryngologica* 124.4 (2004) (siehe S. 35).
- [136] Astrid van Wieringen u. a. "Alternative pulse shapes in electrical hearing". In: *Hearing Research* 242.1 (2008) (siehe S. 35).
- [137] Artur M. Pinto, Inês C. Gonçalves und Fernão D. Magalhães. "Graphene-based materials biocompatibility: A review". In: *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 111 (2013) (siehe S. 36).
- [138] Jie Huang u. a. "Mechanism of Cellular Uptake of Graphene Oxide Studied by Surface-Enhanced Raman Spectroscopy". In: *Small* 8.16 (2012) (siehe S. 36, 58).
- [139] Kan Wang u. a. "Biocompatibility of Graphene Oxide". In: *Nanoscale Research Letters* 6.1 (2010) (siehe S. 36).
- [140] Abhilash Sasidharan u. a. "Hemocompatibility and Macrophage Response of Pristine and Functionalized Graphene". In: *Small* 8.8 (2012) (siehe S. 36).
- [141] Deshdeepak Sahni u. a. "Biocompatibility of pristine graphene for neuronal interface: Laboratory investigation". In: *Journal of Neurosurgery. Pediatrics* 11.5 (2013) (siehe S. 36).
- [142] Shuchi Agarwal u. a. "Interfacing Live Cells with Nanocarbon Substrates". In: *Langmuir* 26.4 (2010) (siehe S. 36).
- [143] Tapas R. Nayak u. a. "Graphene for Controlled and Accelerated Osteogenic Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells". In: *ACS Nano* 5.6 (2011) (siehe S. 36).



- 
- [144] Chang-Hsiao Chen u. a. "A graphene-based microelectrode for recording neural signals". In: *16th International Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems Conference*. 2011 (siehe S. 36–40).
- [145] Sung Young Park u. a. "Enhanced Differentiation of Human Neural Stem Cells into Neurons on Graphene". In: *Advanced Materials* 23.36 (2011) (siehe S. 36).
- [146] G.-Y. Chen u. a. "A graphene-based platform for induced pluripotent stem cells culture and differentiation". In: *Biomaterials* 33.2 (2012) (siehe S. 36).
- [147] Alessandra Fabbro u. a. "Graphene-Based Interfaces Do Not Alter Target Nerve Cells". In: *ACS Nano* 10.1 (2016) (siehe S. 36).
- [148] Ning Li u. a. "Three-dimensional graphene foam as a biocompatible and conductive scaffold for neural stem cells". In: *Scientific Reports* 3 (2013) (siehe S. 36).
- [149] Koji Sakai u. a. "Graphene-based neuron encapsulation with controlled axonal outgrowth". In: *Nanoscale* 11.28 (2019) (siehe S. 36).
- [150] Dong-Wook Park u. a. "Graphene-based carbon-layered electrode array technology for neural imaging and optogenetic applications". In: *Nature Communications* 5.5258 (2014) (siehe S. 37, 38, 61).
- [151] Chang-Hsiao Chen u. a. "A flexible hydrophilic-modified graphene microprobe for neural and cardiac recording". In: *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 9.5 (2013) (siehe S. 37, 38).
- [152] Dong-Wook Park u. a. "Electrical Neural Stimulation and Simultaneous in Vivo Monitoring with Transparent Graphene Electrode Arrays Implanted in GCaMP6f Mice". In: *ACS Nano* 12.1 (2018) (siehe S. 37–39, 76).
- [153] Xiaowei Du u. a. "Graphene microelectrode arrays for neural activity detection". In: *Journal of biological physics* 41.4 (2015) (siehe S. 37–39).
- [154] Duygu Kuzum u. a. "Transparent and flexible low noise graphene electrodes for simultaneous electrophysiology and neuroimaging". In: *Nature Communications* 5.5259 (2014) (siehe S. 37–40, 88).
- [155] Dmitry Kireev u. a. "Versatile Flexible Graphene Multielectrode Arrays". In: *Biosensors* 7.1 (2017) (siehe S. 37, 39, 40).
- [156] Dmitry Kireev u. a. "Graphene Multielectrode Arrays as a Versatile Tool for Extracellular Measurements". In: *Advanced Healthcare Materials* 6.12 (2017) (siehe S. 37, 39).
- [157] Dmitry Kireev u. a. "High throughput transfer technique: Save your graphene". In: *Carbon* 107 (2016) (siehe S. 39).
- [158] Wolfgang Schmickler und Elizabeth Santos. *Interfacial electrochemistry*. Springer, 2010 (siehe S. 44).
- [159] Piero Zanello. *Inorganic electrochemistry: theory, practice and application*. Cambridge, 2003 (siehe S. 44).
- [160] S. Negi, R. Bhandari und F. Solzbacher. "A novel technique for increasing charge injection capacity of neural electrodes for efficacious and safe neural stimulation". In: *Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*. 2012 (siehe S. 45, 47).
- [161] Emma Kate Brunton u. a. "In-vivo comparison of the charge densities required to evoke motor responses using novel annular penetrating microelectrodes". In: *Frontiers in Neuroscience* 9.265 (2015) (siehe S. 46).
- [162] Norman Colthup. *Introduction to infrared and Raman spectroscopy*. Elsevier, 2012 (siehe S. 47).
- [163] C. N. R. Rao, Hrsg. *Graphene: synthesis, properties, and phenomena*. Weinheim, 2013 (siehe S. 48).
-

- 
- [164] Andrea C. Ferrari. “Raman spectroscopy of graphene and graphite: Disorder, electron-phonon coupling, doping and nonadiabatic effects”. In: *Solid State Communications* 143.1 (2007) (siehe S. 48).
- [165] Alfonso Reina u. a. “Large Area, Few-Layer Graphene Films on Arbitrary Substrates by Chemical Vapor Deposition”. In: *Nano Letters* 9.1 (2009) (siehe S. 48, 58).
- [166] C. Ricbard Brundle, Charles A. Evans und Shaun Wilson. *Encyclopedia of Materials Characterization*. Boston: Butterworth-Heinemann, 1992 (siehe S. 50).
- [167] G. Binnig, C. F. Quate und C. Gerber. “Atomic Force Microscope”. In: *Physical Review Letters* 56.9 (1986) (siehe S. 50).
- [168] H. P. Lang u. a. “Nanomechanics from atomic resolution to molecular recognition based on atomic force microscopy technology”. In: *Nanotechnology* 13.5 (2002) (siehe S. 51).
- [169] Dana L. Sedin und Kathy L. Rowlen. “Influence of tip size on AFM roughness measurements”. In: *Applied Surface Science* 182.1 (2001) (siehe S. 51).
- [170] Peter Krauß, Jörg Engstler und Jörg J. Schneider. “A systematic study of the controlled generation of crystalline iron oxide nanoparticles on graphene using a chemical etching process”. In: *Beilstein Journal of Nanotechnology* 8 (2017) (siehe S. 53).
- [171] Peter Krauß. “Synthese, Charakterisierung und chemoresistive Eigenschaften von Graphen und Graphenkompositen”. Diss. Technische Universität Darmstadt, 2017 (siehe S. 53).
- [172] Berit Körbitzer u. a. “Graphene electrodes for stimulation of neuronal cells”. In: *2D Materials* 3.2 (2016) (siehe S. 53, 61, 77).
- [173] Weigao Xu u. a. “Graphene-Veiled Gold Substrate for Surface-Enhanced Raman Spectroscopy”. In: *Advanced Materials* 25.6 (2013) (siehe S. 58).
- [174] C. Nick und C. Thielemann. “Are Carbon Nanotube Microelectrodes Manufactured from Dispersion Stable Enough for Neural Interfaces?” English. In: *BioNanoScience* 4.3 (2014), S. 216–225 (siehe S. 62).
- [175] The An Nguyen u. a. “Excitation Energy Dependent Raman Signatures of ABA- and ABC-stacked Few-layer Graphene”. In: *Scientific Reports* 4 (2014) (siehe S. 62, 63).
- [176] Jun Yan u. a. “Electric Field Effect Tuning of Electron-Phonon Coupling in Graphene”. In: *Physical Review Letters* 98 (2007) (siehe S. 63).
- [177] R. R. Nair u. a. “Fine Structure Constant Defines Visual Transparency of Graphene”. In: *Science* 320.5881 (2008) (siehe S. 65).
- [178] Dennis Flachs, Tim Köhler und Christiane Thielemann. “Transparent poly(3,4-ethylenedioxythiophene)-based microelectrodes for extracellular recording”. In: *Biointerphases* 13.4 (2018) (siehe S. 65, 76).
- [179] D. B. McCreery u. a. “Charge density and charge per phase as cofactors in neural injury induced by electrical stimulation”. In: *Biomedical Engineering, IEEE Transactions on* 37.10 (1990) (siehe S. 76).
- [180] R. V. Shannon. “A model of safe levels for electrical stimulation”. In: *Biomedical Engineering, IEEE Transactions on* 39.4 (1992) (siehe S. 76).
- [181] Berit Körbitzer u. a. “Electrochemical Characterization of Graphene Microelectrodes for Biological Applications”. In: *ChemNanoMat* 5.427 (2019) (siehe S. 77, 86).
- [182] Bruce C. Wheeler und Yoonkey Nam. “In Vitro Microelectrode Array Technology and Neural Recordings”. In: *Biomedical Engineering* 39.1 (2011) (siehe S. 79).

- 
- [183] Robert Bestel. “Simulation neuronaler Aktionspotentiale in Hinblick auf Zellform und Physiologie sowie deren Ableitungsmittels extrazellulärer Mikroelektroden”. Diss. Universität Rostock, 2018 (siehe S. 79).
- [184] Tim Köhler. “Auswirkungen elektromagnetischer Strahlung auf die elektrophysiologischen Eigenschaften neuronaler und kardialer Zellnetzwerke”. Diss. Technische Universität Darmstadt, 2019 (siehe S. 85).
- [185] Scott F. Lempka u. a. “Theoretical analysis of intracortical microelectrode recordings”. In: *Journal of Neural Engineering* 8.4 (2011) (siehe S. 88).

# A Übersicht Prozessierung

**Tabelle A.1.:** Übersicht über den Prozessablauf bei der Herstellung der Mikroelektroden-Arrays und die in den einzelnen Prozessschritten verwendeten Materialien.

Prozessschritt	Verwendete Materialien
Reinigung des Glaswafers	Borofloat Glaswafer <sup>1</sup> , Aceton, Isopropanol, Stickstoff
Aufschleudern von Photolack 1	Lackschleuder, Heizplatte, Photolack nLof 2070 <sup>2</sup>
Strukturierung von Photolack 1	Maske, UV-KUB 1 <sup>3</sup> , Entwickler AZ 826 MIF <sup>2</sup>
Sputtern	Sputteranlage Nano 36 <sup>4</sup> , Chrom 20 nm und Gold 100 nm
Lift-off 1	Entwickler mr-Dev 600 <sup>5</sup> , Ultraschallbad, Aceton, Isopropanol, Stickstoff
Aufschleudern von Schutzlack	Photolack AZ MIR 701 <sup>2</sup>
Vereinzeln der Chips	Wafersäge DAD 320 <sup>6</sup>
Reinigung der vereinzelten Chips	Aceton, Isopropanol, Stickstoff
Aufschleudern von Photolack 2	Lackschleuder, Heizplatte, Photolack AZ MIR 701 <sup>2</sup>
Strukturierung von Photolack 2	Maske, Maskaligner MJB4 <sup>7</sup> , Entwickler AZ Developer <sup>2</sup>
Graphen Transfer	Graphen
Lift-off 2	Aceton, Isopropanol, Stickstoff
Aufschleudern der Isolationsschicht	Lackschleuder, Heizplatte, Photolack SU-8 3005 <sup>5</sup>
Strukturierung der Isolationsschicht	Maske, Maskaligner MJB4, Heizplatte, Entwickler mr-Dev 600 <sup>5</sup>
Hardbake der Isolationsschicht	Heizplatte

<sup>1</sup> Schott AG, Mainz, Deutschland

<sup>2</sup> MicroChemicals GmbH, Ulm, Deutschland

<sup>3</sup> Kloe, Montpellier, Frankreich

<sup>4</sup> Kurt J. Lesker Company, Hastings, England

<sup>5</sup> Micro Resist Technology GmbH, Berlin, Deutschland

<sup>6</sup> DISCO, Tokyo, Japan

<sup>7</sup> Süss MicroTec SE, Garching, Deutschland

## B Statistik

**Tabelle B.1.:** Anzahl der pro Chip gemittelten Elektrodenmessungen aus Tabelle 5.8.

Material	Chip	Impedanz	CSC	Potential	CIC
<b>Graphen</b>	iMEA02	8	5	5	5
	iMEA05	5	6	6	5
	iMEA06	6	6	3	6
	cMEA02	7	6	3	5
	cMEA03	10	11	6	8
<b>Gold</b>	AuMEA04	10	7	5	5
	AuMEA11	7	9	7	7
<b>Gold / Graphen</b>	GrMEA20	8	8	6	6
	GrMEA21	9	8	5	6
<b>Platin</b>	MEA1142	5	6	5	5
<b>TiN</b>	MEA18222	6	4	5	5
<b>CNT</b>	CN064	6	5	5	6

---

## C Abkürzungsverzeichnis

<b>AFM</b>	Rasterkraftmikroskop ( <i>atomic force microscope</i> )
<b>AP</b>	Aktionspotential
<b>ATP</b>	Adenosintriphosphat
<b>CI</b>	Cochlea Implantat
<b>CIC</b>	Ladungsinjektionskapazität ( <i>charge injection capacity</i> )
<b>CNT</b>	Kohlenstoffnanoröhre ( <i>carbon nanotube</i> )
<b>CSC</b>	Ladungsspeicherkapazität ( <i>charge storage capacity</i> )
<b>CV</b>	Zyklovoltammetrie ( <i>cyclic voltammetry</i> )
<b>CVD</b>	Chemische Gasphasenabscheidung ( <i>chemical vapor deposition</i> )
<b>div</b>	Tage <i>in vitro</i>
$E^0$	Standardelektrodenpotential
<b>EIS</b>	Elektrochemische Impedanzspektroskopie
<b>F</b>	Faradaykonstante $9,64853 \cdot 10^4$ C/mol
<b>FGP</b>	Schnelle galvanostatische Pulse ( <i>fast galvanic pulses</i> )
<b>FLG</b>	Mehrlagiges Graphen ( <i>few layer graphene</i> )
<b>FWHM</b>	Halbwertsbreite ( <i>full width at half maximum</i> )
<b>GO</b>	Graphenoxid
<b>rGO</b>	Reduziertes Graphenoxid
<b>hiPSC</b>	Humane induzierte pluripotente Stammzellen
$k_B$	Boltzmann-Konstante $1,380649 \cdot 10^{-23}$ J/K
<b>MEA</b>	Mikroelektroden-Array
<b>MWNT</b>	Mehrwandige Kohlenstoffnanoröhre ( <i>multi-walled carbon nanotube</i> )
<b>PBS</b>	Phosphatgepufferte Salzlösung ( <i>phosphate buffered saline</i> )
<b>PDMS</b>	Polydimethylsiloxan
<b>PEI</b>	Polyethylenimin
<b>PSD</b>	Spektrale Leistungsdichte ( <i>power spectral density</i> )



---

<b>REM</b>	Rasterelektronenmikroskop
<b>SHE</b>	Standardwasserstoffelektrode
<b>SLG</b>	Einlagiges Graphen ( <i>single layer graphene</i> )
<b>SNR</b>	Signal-Rausch-Verhältnis ( <i>signal-to-noise ratio</i> )
<b>SWNT</b>	Einwandige Kohlenstoffnanoröhre ( <i>single-walled carbon nanotube</i> )
<b>THS</b>	Tiefe Hirnstimulation
<b>TiN</b>	Titannitrid
<b>UV</b>	Ultraviolett

---

## Danksagung

---

Die vorliegende Arbeit ist im Rahmen meiner Tätigkeit als wissenschaftliche Mitarbeiterin im BioMEMS-Labor von Professor Christiane Thielemann an der Technischen Hochschule Aschaffenburg in Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Professor Jörg J. Schneider am Eduard-Zintl-Institut für Anorganische und Physikalische Chemie der Technischen Universität Darmstadt entstanden.

An dieser Stelle möchte ich mich ganz herzlich bei Professor Christiane Thielemann bedanken für die Betreuung dieser interdisziplinären Arbeit, die Unterstützung und Ermunterung bei Problemen und das offene Ohr für alle Fragen. Ebenso geht mein Dank an Professor Jörg J. Schneider für die Aufnahme in seine Arbeitsgruppe und die hilfreichen Diskussionen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Professor Ralph Krupke und Professor Christian Hess möchte ich für die Übernahme der Fachprüfungen bei der Disputation danken.

Ein besonderer Dank gilt Robert Bestel für die zahlreichen Korrekturen zu diesem Text, die Versorgung mit Kaffee und die interessanten Diskussionen. Ebenso danke ich auch Margot Mayer für das Korrekturlesen und die Hilfe bei allen Bio-Fragestellungen und Stefan Belle für die Transmissionsmessungen und die Unterstützung bei der Reinraumtechnik.

Ich möchte außerdem allen Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen der Arbeitsgruppe von Professor Schneider danken, insbesondere Sandeep Yadav und Peter Krauß für die Herstellung und den Transfer der Kohlenstoffmaterialien und die gute Zusammenarbeit, sowie Mathias Nowotny für die Anmerkungen zu dieser Arbeit.

Allen aktuellen und ehemaligen Mitgliedern der BioMEMS-AG, insbesondere Christoph Nick, Johannes Frieß, Robert Bestel, Margot Mayer, Tim Köhler, Florian Emmerich, Manuel Ciba, Dennis Flachs, Karin Schilling und Stefan Belle, danke ich für die vielfältige Unterstützung bei meiner Arbeit und die gute Stimmung im Labor und beim Geocaching.

Zuletzt danke ich meiner Familie, meinen Freunden und allen Anderen, die mich mit Rat und Tat unterstützt und begleitet haben, sowie meinem Freund Stefan Heckel für Verständnis, Zuversicht und Hilfe in allen Lebenslagen.

---

## Veröffentlichungen

---

Berit Körbitzer, Peter Krauß, Stefan Belle, Jörg J. Schneider und Christiane Thielemann. „Electrochemical Characterization of Graphene Microelectrodes for Biological Applications“. In: *ChemNanoMat* 5.427 (2019).

Berit Körbitzer, Peter Krauß, Christoph Nick, Sandeep Yadav, Jörg J. Schneider und Christiane Thielemann. „Graphene electrodes for stimulation of neuronal cells“. In: *2D Materials* 3.2 (2016).

Berit Körbitzer, Peter Krauß, Jörg J. Schneider und Christiane Thielemann. „Characterization Of Graphene-Coated Microelectrode Arrays For Recording And Stimulation Of Neuronal Cells“. In: *Frontiers in Neuroscience* 13 (2016).

Jens Müller, Berit Koerbitzer, Adham Amyan, Merlin Pohlitz, Yuzo Ohno and Hideo Ohno „Noise spectroscopy studies of GaAs/AlGaAs hall devices for optimizing micro- and nano-scale magnetic measurements“. In: *International Conference on Noise and Fluctuations* (2015).

---

## Konferenzbeiträge

---

Berit Körbitzer, Peter Krauß, Jörg J. Schneider und Christiane Thielemann. „Characterization Of Graphene-Coated Microelectrode Arrays For Recording And Stimulation Of Neuronal Cells“, *10th International Meeting on Substrate-Integrated Microelectrode Arrays*, Reutlingen, 2016.

Berit Körbitzer, Peter Krauß, Christoph Nick, Sandeep Yadav, Jörg J. Schneider und Christiane Thielemann. „Graphene electrodes for recording and stimulation of neuronal cells“, *ICREA Workshop on Graphene NanoBiosensors*, Barcelona, 2015.

Berit Körbitzer, Martun Hovhannisyan, and Martin Letz. „Influence of nano crystallites in barium titanate glass ceramics on the ferroelectric phase transition“. *Frühjahrstagung der Deutschen Physikalischen Gesellschaft*, Dresden 2014.

Berit Körbitzer, Pintu Das, Yuzo Ohno, Hideo Ohno and Jens Müller „Noise spectroscopy of two-dimensional-electron systems in GaAs/AlGaAs heterostructures“. *Frühjahrstagung der Deutschen Physikalischen Gesellschaft*, Berlin 2012.

---

## Betreute Arbeiten

---

### Masterarbeiten:

Dennis Flachs „PEDOT-basierte Mikroelektroden für Anwendungen im Life Science Bereich“ (2017)

Andreas Mathias „Closed-loop Schnittstelle zwischen elektrogenen Zellen und MEA Chip“ (2016)

Karsten Ergler „Nanostrukturierter Mikrosensor für den Nachweis biologischer Größen“ (2016)

### Bachelorarbeiten:

Dennis Flachs „Realisierung, Charakterisierung und Vergleich von Herstellungsprozessen für Mikroelektrodenarray-Chips“ (2016)

Markus Döpfert „Herstellung von magnetischen Nanodrähten zum Einsatz in einem Energy Harvester“ (2016)

Janis Uhrig „Stability of Carbon Nanotube-coated Microelectrodes for Neuronal Interfaces“ (2017)

### Studienarbeiten:

Mesut Kutun „Oberflächenmodifikation von Mikroelektroden mit reduziertem Graphenoxid“ (2018)

Jens Jüttner „Strukturierung von PDMS-Oberflächen mit Polydopamin“ (2017)

---

# Erklärung zur Dissertation

Hiermit versichere ich, die vorliegende Dissertation ohne Hilfe Dritter nur mit den angegebenen Quellen und Hilfsmitteln angefertigt zu haben. Alle Stellen, die aus Quellen entnommen wurden, sind als solche kenntlich gemacht. Diese Arbeit hat in gleicher oder ähnlicher Form noch keiner Prüfungsbehörde vorgelegen und ich habe noch keinen Promotionsversuch unternommen.

Darmstadt, den 21. Oktober 2019

---

(Silke Berit Körbitzer)

---

# Erklärung der Übereinstimmung

Ich erkläre hiermit, dass die elektronische Version der Doktorarbeit mit der schriftlichen Version übereinstimmt. Die elektronische Version liegt dem Prüfungssekretariat vor.

Darmstadt, den 21. Oktober 2019

---

(Silke Berit Körbitzer)